

Karolyne Kelcy dos Santos Skripnik

**INVESTIGAÇÃO E COMPARAÇÃO DE PERFIS DE  
DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO  
MODIFICADA CONTENDO FÁRMACOS COM DIFERENTES  
CLASSIFICAÇÕES BIOFARMACÊUTICAS UTILIZANDO  
DIFERENTES APARATOS DE DISSOLUÇÃO**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Farmácia da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de em Mestre em Farmácia.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Hellen Karine Stulzer.

Coorientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Simone Gonçalves Cardoso

Florianópolis  
2015

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Skripnik, Karolyne Kelcy dos Santos

INVESTIGAÇÃO E COMPARAÇÃO DE PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE  
COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA CONTENDO FÁRMACOS COM  
DIFERENTES CLASSIFICAÇÕES BIOFARMACÊUTICAS UTILIZANDO  
DIFERENTES APARATOS DE DISSOLUÇÃO / Karolyne Kelcy dos  
Santos Skripnik ; orientadora, Hellen Karine Stulzer ;  
coorientadora, Simone Gonçalves Cardoso. - Florianópolis,  
SC, 2015.

147 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós  
Graduação em Farmácia.

Inclui referências

1. Farmácia. 2. Perfil de Dissolução. 3. Cloridrato de  
metformina. 4. Cetoprofeno. 5. Gliclazida. I. Stulzer,  
Hellen Karine. II. Cardoso, Simone Gonçalves. III.  
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós  
Graduação em Farmácia. IV. Título.

Karolyne Kelcy dos Santos Skripnik

**INVESTIGAÇÃO E COMPARAÇÃO DE PERFIS DE  
DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO  
MODIFICADA CONTENDO FÁRMACOS COM DIFERENTES  
CLASSIFICAÇÕES BIOFARMACÊUTICAS UTILIZANDO  
DIFERENTES APARATOS DE DISSOLUÇÃO**

Esta Dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “Mestre em Farmácia”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós Graduação em Farmácia.

Florianópolis, 16 de Dezembro de 2015.

---

Prof.<sup>a</sup> Tânia Beatriz Creczynski Pasa, Dr.<sup>a</sup>  
Coordenadora do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Hellen Karine Stulzer, Dr.<sup>a</sup>  
Dr.<sup>a</sup> Orientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Simone Gonçalves Cardoso, Dr.<sup>a</sup>  
Coorientadora  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Giovana Bazzo, Dr.<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>a</sup> Diva Sonaglio, Dr.<sup>a</sup>  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Prof.<sup>o</sup> Thiago Caon, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina



Dedico esse trabalho aos dois  
homens da minha vida: Kevin e  
Rodrigo



## AGRADECIMENTOS

Dentro desses anos participando do programa de pós graduação em Farmácia da UFSC, foram inúmeras pessoas que passaram na minha vida e, que, de alguma maneira contribuíram para a realização e finalização de mais essa etapa. Pessoas indescritivelmente encantadoras e especiais e que não poderia deixar de agradecer-las por terem resplandecido seu brilho perto de mim;

Agradeço primeiramente e eternamente meu marido Rodrigo que me apoiou desde a decisão inicial até o último ponto colocado na dissertação. Seu apoio, carinho, amor, compreensão, horas, paciência, incentivo, atenção, gestos, marmitas quentinhas... foram fundamentais e me deram forças para a conclusão desse trabalho;

Ao meu filho Kevin que me proporciona a melhor experiência de amor que eu poderia viver. Obrigada pelos seus deliciosos chutes enquanto eu realizava os experimentos e pelo sorriso mais doce e encantador que alguém pode receber depois de um dia exaustivo;

À minha orientadora Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Hellen Stulzer pelas oportunidades, sim, oportunidades porque me mostrou que podia haver outros caminhos quando tudo parecia escuro. Obrigada acima de tudo por toda compreensão e paciência atribuída ao meu vínculo profissional e rotina como mãe;

À coorientadora, Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Simone Gonçalves Cardoso pelas suas sábias e experientes palavras e por sempre me acolher de uma maneira tão carinhosa;

Ao Prof<sup>o</sup> Dr. Marcos Segatto pelas palavras de motivação e jeito descontraído que cativam a todos;

À Prof<sup>a</sup> Dra. Bianca Pezzini por toda sua disposição para ajudar-me durante o projeto, corrigindo e repassando suas sábias sugestões;

Às minhas amadas amigas Viviane e Cinira pelo ombro amigo, momentos de risadas, carinho, apoio, palavras, finais de semana e noites no laboratório... Ter vocês por perto fizeram esses anos valerem muito a pena.

À amiga Manoela que apareceu no meu trabalho como um anjo e me auxiliou com uma paciência enorme, ensinando-me e mostrando-me caminhos;

Ao André do laboratório de Farmacotécnica. Não há como descrever toda a sua dedicação e os finais de semana que você ficou na universidade apenas para me auxiliar com os equipamentos. Muitíssimo grata!

A todo pessoal do laboratório de controle de qualidade da UFSC que não arriscarei a citar o nome individualmente, pelo aprendizado de grupo e união. Alguns em especial como o Rafael e a Cassiana que me auxiliaram diretamente em alguns ensaios.

Ao Paulo Urban, Silvana Kaiser e Clarissa Poletti, meus “chefinhos”, pela oportunidade, atrasos, ausências e acima de tudo pelo voto de confiança e por acreditarem no meu potencial;

A todo pessoal da Essentia Pharma que de alguma maneira auxiliaram-me devido as minhas ausências, em especial à farmacêutica Patrícia Ferraz que abraçava o setor e fazia a “roda girar”;

À minha mãe Marlene pelo incentivo à leitura e aos estudos desde sempre;

Aos meus sogros Maria das Graças e César pelo carinho;

Às amigas Juliana, Sany e Valéria pelas gargalhadas e momentos bons que com certeza serviram de combustível para prosseguir o projeto.

E por fim, nesses últimos meses as amigas Raquel e Bruna pelos momentos diários, desabafos e as boas risadas.



"A vida é um contrato de risco. Fracassar,  
perder, ser vaiado fazem parte das suas  
cláusulas. Quem se aprisiona num casulo  
com medo dessas cláusulas corre o risco  
mais grave ainda, sobretudo de enterrar a  
própria consciência"

(Augusto Cury)



## RESUMO

As formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO) são líderes no mercado industrial farmacêutico devido a sua facilidade de produção, além da adesão por parte do paciente ao tratamento. Essas FF precisam ser bem controladas para garantir ao paciente segurança e eficácia do tratamento. Para diversos fármacos, o desenvolvimento de FFSO com liberação modificada torna-se uma vantagem frente ao tratamento, pois a formulação pode ser modulada para que seja liberada lentamente ou em um sítio específico do trato gastrointestinal (TGI) e consequentemente diminuindo assim o número de administrações e/ou os efeitos adversos do fármaco. Nesse contexto, o ensaio de dissolução é uma ferramenta fundamental que auxilia na verificação da conformidade do produto final, bem como nas etapas de desenvolvimento. O objetivo deste trabalho foi estudar os perfis de dissolução obtidos para comprimidos de liberação modificada, contendo fármacos classe II e III de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutico (BCS), utilizando como ferramenta os aparatos de dissolução 1, 2 e 3, empregado-se como meio de dissolução tampão fosfato 50 mM com diferentes valores de pH ou meio biorrelevante, no caso dos fármacos BCS II. Para tal, selecionou-se 3 medicamentos comerciais (Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg, Profenid retard<sup>®</sup> 200 mg e Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg) contendo os fármacos cloridrato de metformina, cetoprofeno e gliclazida, respectivamente. As metodologias farmacopeicas foram seguidas e utilizadas como base para os demais estudos no caso dos medicamentos cloridrato de metformina e cetoprofeno. No entanto, a literatura não indica uma metodologia oficial para o medicamento gliclazida, requerendo assim uma abordagem mais completa. Os perfis de dissolução obtidos para o cloridrato de metformina mostrou que a liberação do fármaco não depende do pH e que a metodologia proposta em compêndios oficiais pode ser aprimorada, através do uso do aparato 3. O cetoprofeno demonstrou que a sua liberação é dependente de pH e que a metodologia proposta na Farmacopeia Americana (USP, 2011), não foi ideal, apresentando uma dissolução inferior ao preconizado, indicando a necessidade de futuros ensaios com alterações na velocidade e meios de dissolução. A gliclazida por sua vez, também se apresentou como um fármaco dependente de pH, uma vez que a sua solubilidade aumentou em valores de pH maiores. Ainda, a velocidade de agitação influenciou diretamente no perfil de dissolução, sendo que em 100 rpm a liberação foi maior quando comparado a 50 rpm, mantendo as demais condições

experimentais. A partir dos resultados obtidos para esse fármaco, sugeriu-se então uma metodologia de dissolução em aparato 2, empregando-se tampão fosfato pH 6,8 50 mM como meio de dissolução e velocidade de agitação de 100 rpm, que foi devidamente validado, mostrando-se específico, linear, preciso e exato para sua utilização em ensaios de rotina no controle de qualidade.

Palavras-chave: Dissolução, cloridrato metformina, cetoprofeno, gliclazida, comprimidos, liberação modificada

## ABSTRACT

### STUDY AND COMPARISON OF DISSOLUTION PROFILES OF MODIFIED RELEASE TABLET CONTAINING DRUGS WITH DIFFERENT BIOPHARMACEUTICAL CLASSIFICATION USING DIFFERENT DISSOLUTION APPARATUS

The solid oral dosage forms (FFSO) are the most sold by pharmaceutical industry for ease of production besides adherence by the patient to the treatment. These FF must be well controlled to ensure patient safety and treatment efficacy. For many drugs, the development of FF in a modified release system become an advantage over the treatment due the formulation can be adjusted to be released slowly or at a specific site in the gastrointestinal tract (GIT) and consequently decrease the number of administrations and / or effects adverse of the drug. In this context, the dissolution test is an essential tool that assists in monitoring compliance of the final product, as well as in steps of the development. The objective of this work was to study the dissolution profiles obtained for modified release tablets, containing drugs class II and III according with Biopharmaceutics Classification System (BCS), using the dissolution apparatus 1, 2 and 3, with dissolution medium 50 mM phosphate buffer in different pH values or biorrelevante medium, in the case of drugs BCS II. For this purpose, we selected three commercial drugs (Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg, 200 mg and Profenid retard<sup>®</sup> Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg) containing the drug metformin hydrochloride, ketoprofen and gliclazide. The pharmacopoeial methodologies were used for the studies involving the drugs metformin hydrochloride and ketoprofen. However, the literature does not indicate an official method for gliclazide, thus requiring a complete approach. The dissolution profiles obtained for metformin hydrochloride showed that the drug release isn't pH dependent and the methodology proposed in official compendia can be enhanced through the use of the apparatus 3. The ketoprofen demonstrated a pH dependent release and USP pharmacopoeia (USP, 2011) method was not appropriate since it showed a dissolution rate lower than recommended, indicating that is necessary more assays with changes in the speed rate and media of the dissolution. The gliclazide also showed as a pH dependent drug, since the solubility increased at higher pH values. Further, the speed rate directly influence in the dissolution profile, and at 100 rpm the release was higher compared to 50 rpm, keeping the other experimental

conditions. From the results obtained for this drug, it was suggested a dissolution methodology using apparatus 2, phosphate buffer 50mM pH 6.8 as the dissolution medium and speed rate of 100 rpm, which was validated showing to be specific, linear, precise and accurate for use in routine testing in quality control.

Keywords: Dissolution, metformin hydrochloride, ketoprofen, gliclazide, tablets, modified release

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Curvas hipotéticas de concentração plasmática <i>versus</i> tempo para uma forma farmacêutica (FF) convencional e para uma FF de liberação modificada. CEM = concentração eficaz mínima; CTM = concentração tóxica mínima.....	35
<b>Figura 2</b> - Processo esquemático de absorção de fármaco a partir de comprimidos .....	38
<b>Figura 3</b> - Foto ilustrativa do sistema de agitação do aparato 1 sendo A: haste que fixa o cesto e B: cesto. ....	42
<b>Figura 4</b> - Foto ilustrativa do sistema de agitação do aparato 2 (pás). ....	43
<b>Figura 5</b> - Esquema do aparato 1 e 2 após montagem.....	44
<b>Figura 6</b> - Foto ilustrativa do aparato 2 de dissolução (USP). ....	45
<b>Figura 7</b> - Imagem de um aparelho Bio-dis .....	46
<b>Figura 8</b> - Itens presentes no sistema Bio-dis .....	47
<b>Figura 9</b> - Estrutura química do cloridrato de metformina.....	59
<b>Figura 10</b> - Estrutura química do cetoprofeno .....	61
<b>Figura 11</b> - Estrutura química da gliclazida.....	63
<b>Figura 12</b> - Perfis de dissolução do cloridrato de metformina (Glifage XR <sup>®</sup> ) em aparato 2 e sob diversas condições de meio, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8 .....	75
<b>Figura 13</b> - Perfil de liberação do Glifage XR em aparato 3, sendo: (●) Gradiente, e (■) pH 6,8.....	77
<b>Figura 14</b> - Perfil de liberação do Glifage XR <sup>®</sup> em tampão fosfato pH 6,8, sendo (●) Aparato 2 e, (■) Aparato 3 .....	78
<b>Figura 15</b> - Espectro UV do cloridrato de metformina na presença de diversos excipientes, sendo 1: excipientes e 2: cloridrato de metformina.....	80
<b>Figura 16</b> - Perfis de dissolução de cetoprofeno (Profenid Retard <sup>®</sup> ) em aparato 2 e em diferentes meios, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8 .....	92
<b>Figura 17</b> - Perfis de liberação de comprimidos de Profenid Retard <sup>®</sup> em aparato 3, sendo: (●) Gradiente de pH, e (■) tampão fosfato pH 6,8.....	94
<b>Figura 18</b> - Perfis de liberação de comprimidos de Profenid Retard <sup>®</sup> em tampão fosfato pH 6,8, sendo (■) Aparato 2 e, (●) Aparato 3 .....	95
<b>Figura 19</b> - Espectro UV do cetoprofeno na presença de diversos excipientes. Sendo, 1: excipientes e 2: cetoprofeno .....	97
<b>Figura 20</b> – Cromatograma do cetoprofeno em meio biorrelevante obtido por CLAE. Sendo 1: cetoprofeno e 2 meio biorrelevante .....	98
<b>Figura 21</b> - Espectro UV/vis da gliclazida na presença de diversos excipientes, sendo 1: excipiente e 2: gliclazida .....	114
<b>Figura 22</b> – Cromatograma da gliclazida em meio biorrelevante obtido por CLAE, sendo 1: gliclazida e 2: meio biorrelevante .....	115
<b>Figura 23</b> - Perfis de dissolução da gliclazida (Azukon XR <sup>®</sup> ) em aparato 1, 50 rpm (A) e 100 rpm (B) sob diferentes meios de dissolução, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8.....	118

<b>Figura 24</b> - Perfil de dissolução da gliclazida em Aparato 1, em tampão fosfato pH 6,8 e sob diferentes agitações, sendo (●) 50 rpm e (■) 100 rpm .....	120
<b>Figura 25</b> - Perfis de dissolução da gliclazida em aparato 2, 50 rpm (A) e 100 rpm (B) sob diferentes meios de dissolução, sendo: (◆) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8 .....	121
<b>Figura 26</b> - Perfil de dissolução da gliclazida em Aparato 2, em tampão fosfato pH 6,8 e sob diferentes agitações, sendo (●) 50 rpm e (■) 100rpm .....	123
<b>Figura 27</b> - Perfis de dissolução da gliclazida em aparato 3, sendo: (●) com gradiente de pH, (■) tampão fosfato pH 6,8 .....	124
<b>Figura 28</b> - Comparação dos perfis de dissolução de Azukon MR® em tampão fosfato pH 6,8 a 50 rpm (A) e 100 rpm (B), sendo (●) Aparato 1 e (■) Aparato 2 .....	126
<b>Figura 29</b> - Perfil de dissolução da Gliclazida em tampão fosfato pH 6,8, sob diferentes equipamentos sendo (▲) Aparato 1 a 100rpm, (●) Aparato 2 a 50 rpm e (■) Aparato 3 10 dip/min .....	127
<b>Figura 30</b> - Perfil de dissolução da gliclazida em aparato 2, 100rpm, pH 6,8 com diferentes composições de meio, sendo: (●) meio FaSSIF pH 6,8 e (■) tampão fosfato pH 6,8 .....	129
<b>Figura 31</b> - Perfil de dissolução do Azukon MR® (■) e Diamicon MR® (●) em aparato 2, 100rpm e tampão fosfato pH 6,8 .....	131
<b>Figura 32</b> – Espectro UV/vis da gliclazida e do tampão fosfato de sódio 50 mM pH 6.8. Sendo 1: tampão fosfato pH 6,8 e 2: gliclazida .....	133



## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Polímeros de origem vegetal e natural geralmente usados para formas farmacêuticas sólidas de liberação modificada .....	36
<b>Tabela 2</b> - Desvio máximo permitido e desvios comuns de algumas variáveis presentes no ensaio de dissolução .....	49
<b>Tabela 3</b> - Composição e propriedades do meio FaSSiF e FeSSiF.....	54
<b>Tabela 4</b> - Expectativa de correlação <i>in vitro/in vivo</i> (CIV/IV) para medicamentos de liberação imediata. ....	56
<b>Tabela 5</b> - Expectativa de correlação <i>in vitro/in vivo</i> para medicamento de liberação modificada .....	57
<b>Tabela 6</b> - Valores de pH e tempo de transito para os diversos sítios do TGI...58	
<b>Tabela 7</b> - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis).....	70
<b>Tabela 8</b> - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos de Glifage XR® .....	73
<b>Tabela 9</b> – Solubilidade de equilíbrio do cloridrato de metformina em diversos meios de dissolução após 24 horas .....	74
<b>Tabela 10</b> - Porcentagem de dissolução em 1, 3, 10, 24 h e ED dos perfis obtidos através de comprimidos Glifage XR® .....	76
<b>Tabela 11</b> - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos Glifage XR® .....	76
<b>Tabela 12</b> - Porcentagem de dissolução em 1, 3, 10, 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos de Glifage XR® .....	78
<b>Tabela 13</b> - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Glifage XR® 79	
<b>Tabela 14</b> - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis).....	86
<b>Tabela 15</b> - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos de Profenid Retard® .....	90
<b>Tabela 16</b> – Solubilidade de equilíbrio do cetoprofeno em diversos meios de dissolução .....	91
<b>Tabela 17</b> - Porcentagem de dissolução em 1, 4, 8, 24 h e ED dos perfis obtidos com comprimidos Profenid Retard® em aparato 2 .....	93
<b>Tabela 18</b> - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos de Profenid Retard® .....	94
<b>Tabela 19</b> - Porcentagem de dissolução em 1, 4, 8, 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos de Profenid Retard® .....	94
<b>Tabela 20</b> - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Profenid Retard® .....	96
<b>Tabela 21</b> - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis)....	108
<b>Tabela 22</b> –Preparação de 350 mL de meio de dissolução biorrelevante pH 6,8. ....	109
<b>Tabela 23</b> - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos comerciais de gliclazida.....	112
<b>Tabela 24</b> – Solubilidade de equilíbrio da gliclazida em diversos meios de dissolução .....	116

<b>Tabela 25</b> - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 1 para comprimidos Azukon MR® sob duas condições de agitação ...	119
<b>Tabela 26</b> - Comparação dos perfis de dissolução utilizando o fator de semelhança f2, em aparato 1, para comprimidos Azukon MR® 30 mg .....	119
<b>Tabela 27</b> - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 2 para comprimidos Azukon MR® sob duas condições de agitação ...	122
<b>Tabela 28</b> - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos Azukon MR® 30 mg .....	122
<b>Tabela 29</b> - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos Azukon MR® .....	124
<b>Tabela 30</b> - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Azukon MR® 30 mg e Diamicon XR® 30 mg.....	132

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E UNIDADES

AINE	Anti-inflamatório não esteroidal
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
BCS	Sistema de Classificação Biofarmacêutica
°C	Graus Celsius
CIV/IV	Correlação <i>In vivo/In vitro</i>
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
Cm	Centímetros
C <sub>máx</sub>	Concentração máxima
DP	Desvio Padrão
ED	Eficiência de dissolução
f2	Fator de semelhança
FaSSIF	Fluido intestinal simulado em jejum
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FeSSIF	Fluido intestinal simulado alimentado
FF	Forma farmacêutica
FFSO	Formas Farmacêuticas Sólidas Oraís
G	Grama
GIT	Gastrointestinal tract
H	Hora
Kg	Quilograma
L	Litros
LD	Limite de detecção
LQ	Limite de quantificação
mg	Miligrama
min	Minuto
mL	Mililitro
pH	Potencial hidrogenionico
PVP	Povidona
T	Quantidade rotulada
TGI	Trato Gastrointestinal
USP	<i>United States Pharmacopoeia</i>
UV	Ultravioleta
µg	Micrograma



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO GERAL .....</b>	<b>29</b>
1.1 OBJETIVOS .....	29
1.1.1 Objetivo Geral .....	30
1.1.2 Objetivos Específicos .....	30
 <b>CAPÍTULO I - REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>33</b>
<b>1 FORMAS FARMACEUTICAS SÓLIDAS ORAIS (FFSO) .....</b>	<b>34</b>
<b>2. ENSAIO DE DISSOLUÇÃO .....</b>	<b>37</b>
2.1 HISTÓRICO DA DISSOLUÇÃO .....	39
2.2 APARATOS FARMACOPEICOS .....	42
2.2.1 Aparatos 1 e 2 .....	42
2.2.2 Aparato 3 (Bio-Dis) .....	45
2.3 VARIÁVEIS QUE AFETAM O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO .....	47
2.3.1 Instrumental .....	47
2.3.2 Técnica de dissolução .....	48
2.3.3 Operacional .....	49
2.3.4 Fármaco e/ou forma farmacêutica .....	50
2.4 MEIO DE DISSOLUÇÃO .....	51
2.4.1 Meios biorrelevantes .....	53
2.5 MODELOS ESTATÍSTICOS PARA COMPARAÇÃO DOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO .....	54
2.6 CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE TESTES DE DISSOLUÇÃO PARA FFSSO DE LIBERAÇÃO MODIFICADA .....	55
2.7 O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (BCS) E SEU IMPACTO NA DISSOLUÇÃO .....	55
2.8 CORRELAÇÃO <i>IN VITRO/IN VIVO</i> .....	57

<b>3 CLORIDRATO DE METFORMINA</b>	59
3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	59
3.2 MECANISMO DE AÇÃO	60
3.3 FARMACOCINÉTICA	60
<b>4 CETOPROFENO</b>	60
4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	61
4.2 MECANISMO DE AÇÃO	61
4.3 FARMACOCINÉTICA	62
<b>5 GLICLAZIDA</b>	62
5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS	63
5.2 MECANISMO DE AÇÃO	63
5.3 FARMACOCINÉTICA	64

## **CAPÍTULO II - COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE CLORIDRATO DE METFORMINA EMPREGANDO APARATOS 2 E 3**

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	66
<b>2 METODOLOGIA</b>	67
2.1 MATERIAIS	67
2.2 MÉTODOS	67
<b>2.2.1 Testes físicos dos comprimidos</b>	<b>67</b>
2.2.1.1 Peso médio	67
2.2.1.2 Dureza	67
2.2.1.3 Friabilidade	67
2.2.1.4 Doseamento	68
<b>2.2.2 Estudos de solubilidade</b>	<b>68</b>
<b>2.2.3 Ensaios de dissolução</b>	<b>68</b>
2.2.3.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 – pá	69
2.2.3.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis	69

<b>2.2.4 Metodologia de quantificação do cloridrato de metformina por espectrofotometria na região UV .....</b>	<b>70</b>
2.2.4.1 Especificidade .....	70
2.2.4.2 Linearidade .....	70
2.2.4.3 LD e LQ .....	71
<b>2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução .....</b>	<b>71</b>
2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED) .....	71
2.2.5.2 Fator de semelhança (f2) .....	72
2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução .....	72
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>72</b>
3.1 TESTES FÍSICOS .....	72
3.2 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE .....	73
3.3 PERFIS DE LIBERAÇÃO DO CLORIDRATO DE METFORMINA A PARTIR DE COMPRIMIDOS DE GLIFAGE XR® .....	74
<b>3.3.1 Aparato 2 – pá .....</b>	<b>74</b>
<b>3.3.2 Aparato 3 - Bio Dis .....</b>	<b>77</b>
<b>3.3.3 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução <i>in vitro</i> .....</b>	<b>79</b>
3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CLORIDRATO DE METFORMINA POR ESPECTROSCOPIA-UV .....	81
<b>3.4.1 Linearidade, LD e LQ .....</b>	<b>79</b>
<b>3.4.2 Especificidade .....</b>	<b>80</b>
<b>4. CONCLUSÃO .....</b>	<b>80</b>
 <b>CAPÍTULO III - COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE CETOPROFENO EMPREGANDO APARATO 2 E 3 .....</b>	 <b>81</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>82</b>

<b>2 METODOLOGIA .....</b>	<b>83</b>
2.1 MATERIAIS .....	83
2.2 MÉTODOS .....	83
<b>2.2.1 Testes físicos dos comprimidos .....</b>	<b>83</b>
2.2.1.1 Peso médio .....	83
2.2.1.2 Dureza .....	83
2.2.1.3 Friabilidade .....	84
2.2.1.4 Doseamento .....	84
<b>2.2.2 Estudos de solubilidade .....</b>	<b>85</b>
<b>2.2.3 Ensaios de dissolução .....</b>	<b>85</b>
<b>2.2.3.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 – pá .....</b>	<b>85</b>
<b>2.2.3.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis .....</b>	<b>85</b>
<b>2.2.4 Metodologia de quantificação do cetoprofeno .....</b>	<b>86</b>
2.2.4.1 Espectrofotometria na região do UV .....	86
2.2.4.1.1 Especificidade .....	87
2.2.4.1.2 Linearidade .....	87
2.2.4.1.3 LD e LQ .....	87
2.2.4.2 Metodologia de quantificação do cetoprofeno por CLAE .....	87
2.2.4.2.1 Especificidade .....	88
2.2.4.2.2 Linearidade .....	88
2.2.4.2.3 LD e LQ .....	88
<b>2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução .....</b>	<b>88</b>
2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED) .....	88
2.2.5.2 Fator de semelhança (f2) .....	89
2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução .....	89
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>89</b>
3.1 TESTES FÍSICOS .....	89



3.2 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE .....	90
3.3 PERFIS DE LIBERAÇÃO DO CETOPROFENO A PARTIR DE COMPRIMIDOS DE PROFENID RETARD® .....	91
3.3.1 Aparato 2 – pá .....	91
3.3.2 Aparato 3 .....	94
3.3.3 Impacto do aparato de dissolução na liberação do cetoprofeno em comprimidos de Profenid Retard® .....	95
3.3.4 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução <i>in vitro</i> .....	96
3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CETOPROFENO POR ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA .....	98
3.4.1 Linearidade, LD e LQ .....	96
3.4.2 Especificidade .....	97
3.5.1 Linearidade, LD e LQ .....	97
3.5.2 Especificidade .....	98
4 CONCLUSÃO .....	98

## **CAPÍTULO IV - DESENVOLVIMENTO, COMPARAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE DISSOLUÇÃO PARA COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA CONTENDO O FÁRMACO GLICLAZIDA .....**

1 INTRODUÇÃO .....	102
2 METODOLOGIA .....	103
2.1 MATERIAIS .....	103
2.2 MÉTODOS .....	103
2.2.1 Testes físicos dos comprimidos .....	103
2.2.1.1 Peso médio .....	103
2.2.1.2 Dureza .....	104
2.2.1.3 Friabilidade .....	104

2.2.1.4 Doseamento .....	104
<b>2.2.2. Metodologias de quantificação da gliclazida .....</b>	<b>105</b>
2.2.2.1 Espectrofotometria na região UV .....	105
<b>2.2.2.1.1 Especificidade .....</b>	<b>105</b>
<b>2.2.2.1.2 Linearidade .....</b>	<b>105</b>
<b>2.2.2.1.3 LD e LQ .....</b>	<b>105</b>
2.2.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) .....	106
<b>2.2.2.2.1 Especificidade .....</b>	<b>106</b>
<b>2.2.2.2.2 Linearidade .....</b>	<b>106</b>
<b>2.2.2.2.3 LD e LQ .....</b>	<b>106</b>
<b>2.2.3 Estudos de solubilidade .....</b>	<b>107</b>
<b>2.2.4 Ensaios de dissolução .....</b>	<b>107</b>
2.2.4.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 1 – cesta .....	107
2.2.4.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 – pá .....	108
2.2.4.3 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis .....	108
2.2.4.4 Ensaios de dissolução em meio biorrelevante .....	109
<b>2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução .....</b>	<b>110</b>
2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED) .....	110
2.2.5.2 Fator de semelhança (f2) .....	110
2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução .....	110
<b>2.2.6 Validação analítica do ensaio de dissolução .....</b>	<b>111</b>
2.2.6.1 Especificidade .....	111
2.2.6.2 Exatidão e precisão .....	111
2.2.6.3 Estabilidade no meio de dissolução .....	112
<b>3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>112</b>
3.1 TESTES FÍSICOS .....	112

3.2 METODOLOGIA DE QUANTIFICAÇÃO DA GLICLAZIDA POR UV/vis .....	113
3.2.1 Linearidade, LD e LQ .....	113
3.2.2 Especificidade .....	114
3.3 METODOLOGIA DE QUANTIFICAÇÃO DA GLICLAZIDA POR CLAE .....	114
3.3.1 Linearidade, LD e LQ .....	114
3.3.2 Especificidade .....	114
3.4 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE .....	115
3.5 PERFIS DE LIBERAÇÃO DA GLICLAZIDA A PARTIR DE COMPRIMIDOS COMERCIAIS .....	117
3.5.1 Aparato 1 – cesta .....	117
3.5.2 Aparato 2 – pá .....	120
3.5.3 Aparato 3 - Bio dis .....	123
3.5.4 Impacto do aparato de dissolução na liberação de gliclazida em comprimidos comerciais de liberação modificada .....	125
3.5.5 Impacto do meio biorrelevante no perfil de dissolução da gliclazida .....	127
3.5.6 Aplicação do ensaio de dissolução desenvolvido no controle de qualidade de comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida: similar <i>versus</i> referência .....	129
3.5.6.1 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução <i>in vitro</i> .....	132
3.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO .....	133
3.6.1 Especificidade .....	133
3.6.2 Linearidade, LD e LQ .....	133
3.6.3 Exatidão e precisão .....	134

<b>3.6.4 Estabilidade no meio de dissolução .....</b>	<b>134</b>
<b>4 CONCLUSÃO.....</b>	<b>134</b>
<b>CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS.....</b>	<b>135</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>139</b>

# 1 INTRODUÇÃO GERAL

As formas farmacêuticas sólidas orais (FFSO) têm sido, por décadas, as formas preferidas pelos pacientes. Sua facilidade de administração e produção confere a essas formas farmacêuticas (FF) liderança no mercado industrial farmacêutico, com cerca de 80% dos medicamentos vendidos sendo administrados por via oral (LENNERNAS; ABRAHAMSSON, 2005).

A dissolução de uma FFSO pode ser definida como o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010; MARQUES; LOEBENBERG; ALMUKAINZI, 2011). O ensaio de dissolução visa submeter a FF à ação de aparelhagem e condições experimentais específicas durante um período de tempo pré-definido com intuito do fármaco solubilizar-se no meio de dissolução selecionado, obtendo-se assim o perfil de liberação (ALVES et al., 2012). Com o perfil de liberação plotado em gráfico (porcentagem de fármaco liberado *versus* tempo) é possível avaliar o comportamento da formulação *in vitro* e prever, em muitos casos, como a mesma irá se comportar *in vivo* (AGUIAR et al., 2005).

O teste de dissolução tem fundamental importância no conjunto de medidas destinadas a verificar a conformidade do produto no que diz respeito à identidade, atividade, pureza, eficácia, segurança, inocuidade e integridade segundo as especificações mínimas de qualidade preconizadas em compêndios oficiais. Os resultados do teste de dissolução permitem avaliar fatores que podem alterar a solubilidade e a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica e, por conseguinte influenciar na sua biodisponibilidade (MARQUES; BROWN, 2002).

A grande maioria dos fármacos disponíveis apresentam uma baixa solubilidade em água e, como consequência, uma pobre dissolução no trato gastrointestinal (TGI), dificultando a absorção do fármaco. O problema de biodisponibilidade de muitos fármacos torna-se um desafio para o desenvolvimento e também para o aprimoramento de muitas FF. A avaliação da dissolução *in vitro* mostra-se, assim, como uma importante aliada para prever o comportamento do fármaco *in vivo* (DRESSMAN; KRAMER, 2009).

Compêndios oficiais dedicam capítulos e fornecem guias para o desenvolvimento e a validação de procedimentos de dissolução, dada a importância do ensaio tanto para o desenvolvimento de formulações quanto para o controle de qualidade de FFSO (USP, 2011; F. BRAS.,

2010; ICH, 2005; FDA, 1997; F. BRITÂNICA, 2008). No Brasil o ensaio de dissolução começou a ser exigido para registro de medicamentos a partir da introdução dos medicamentos genéricos no país (1999). Frente a importância do ensaio de dissolução, torna-se necessário avaliá-lo, discuti-lo e revisá-lo para que o método proposto em compêndios oficiais seja capaz de ser reprodutível, simples, rápido e de baixo custo para ser aplicado na análise de rotina do controle de qualidade das FFSO (MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar os perfis de dissolução de comprimidos de liberação modificada contendo fármacos com diferentes classificações biofarmacêuticas utilizando distintos aparatos, meios e parâmetros de dissolução.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Determinar a solubilidade dos fármacos cloridrato de metformina, cetoprofeno e gliclazida nos tampões fosfato 50 mM pH 4,5; 5,5; 6,0; 6,4; 6,8 e 7,0;
- Determinar a solubilidade dos fármacos cetoprofeno e gliclazida, em meio biorrelevante pH 6,8;
- Comparar o perfil de dissolução dos comprimidos de liberação modificada contendo o fármaco cloridrato de metformina ou cetoprofeno com aparato 2 (método farmacopeico) e com aparato 3;
- Avaliar a influência dos diferentes meios no perfil de liberação dos fármacos cloridrato de metformina, cetoprofeno e gliclazida;
- Desenvolver e validar um método para avaliar a dissolução de gliclazida em comprimidos de liberação modificada;
- Avaliar o impacto de diferentes aparatos farmacopeicos e condições de análises nos perfis de dissolução nos comprimidos de gliclazida;

- Utilizar modelos matemáticos para caracterizar os perfis de dissolução obtidos para as diferentes formulações contendo metformina, cetoprofeno e gliclazida;
- Avaliar os mecanismos cinéticos envolvidos na liberação dos fármacos a partir dos resultados de perfil de dissolução;
- Comparar os perfis de liberação obtidos para o medicamento similar e referência contendo o fármaco gliclazida a partir do método de dissolução selecionado.





## **CAPÍTULO I**

### **REVISÃO DA LITERATURA**

---

## **1 FORMAS FARMACEUTICAS SÓLIDAS ORAIS (FFSO)**

Segundo a Farmacopeia Brasileira, uma forma farmacêutica (FF) pode ser definida como o estado final de apresentação dos princípios ativos farmacêuticos após uma ou mais operações farmacêuticas executadas, com a adição ou não de excipientes apropriados, a fim de facilitar a sua utilização e obter o efeito terapêutico desejado, com características apropriadas a uma determinada via de administração (F. BRAS., 2010). De um modo geral, as formas farmacêuticas podem ser classificadas como sólidas, líquidas ou semissólidas. As FFSSO incluem os pós, grânulos, cápsulas e comprimidos, sendo as duas últimas mais comumente usadas. Os comprimidos são FFSSO que contêm uma dose única de um ou mais princípios ativos, com ou sem excipiente, obtidos pela compressão de volumes uniformes de partículas (ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010).

O uso de medicamentos pela via oral, especialmente os comprimidos e as cápsulas, é bem aceito pelos pacientes, pela facilidade de administração possibilitando assim, maior adesão ao tratamento. Do ponto de vista industrial são geralmente de fácil produção, com dosagem mais precisa, sendo mais estáveis que as formas farmacêuticas líquidas, além de apresentarem um menor custo na produção em larga escala e facilidade na embalagem, rotulagem e distribuição (ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010; WEN; PARK, 2010; MADERUELO; ZARZUELO; LANA, 2011).

A produção de comprimidos requer a associação do princípio ativo com uma gama de excipientes considerados como inertes e que irão auxiliar no processo de obtenção dos mesmos. Apesar de inertes, esses excipientes auxiliam o processo de produção e podem interferir diretamente nas características do produto final como aparência física, estabilidade e até mesmo estar envolvido no processo de desintegração do comprimido quando o mesmo é ingerido pelo paciente. Contudo, a escolha dos excipientes adequados deve assegurar que a disponibilidade fisiológica e a eficácia terapêutica da substância ativa não seja diminuída. Os fármacos devem ser liberados da forma farmacêutica sob o qual são apresentados, na quantidade apropriada e de modo que o início e a duração de sua ação sejam os desejados (CHANG; CHANG, 2007; KUBBINGAA; MOGHANI; LANGGUTH, 2014; ABDELLAH; NOORDIN; ISMAIL, 2015;).

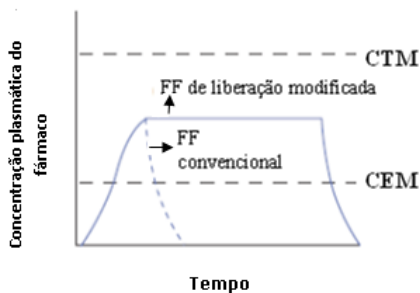
Toda técnica envolvida na obtenção do comprimido deve estar bem desenvolvida, estabelecida e controlada, para que tanto as

características físico-químicas inerentes ao fármaco quanto as características dos excipientes que compõe a formulação não interfiram na sua disponibilidade fisiológica (ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010).

Em relação ao perfil de liberação, as FFSO podem ser de liberação imediata, quando liberam o fármaco imediatamente após a administração ou de liberação modificada (Figura 1). Uma FFSO é classificada como de liberação modificada quando se empregam mecanismos que modulam a liberação do fármaco a partir de sua matriz, retardando ou prolongando sua liberação. Há 3 motivos principais para se produzir uma FFSO com liberação modificada (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007):

- 1) tornar a forma farmacêutica gastrorresistente;
- 2) prolongar o efeito farmacológico do fármaco; ou
- 3) liberar o fármaco num sítio específico do trato gastrointestinal (TGI) ou após um período definido de tempo (cronoterapia).

**Figura 1** - Curvas hipotéticas de concentração plasmática *versus* tempo para uma forma farmacêutica (FF) convencional e para uma FF de liberação modificada. CEM = concentração eficaz mínima; CTM = concentração tóxica mínima. Fonte: adaptado de ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010



Quando se deseja prolongar o efeito do fármaco, a vantagem ao paciente é a redução do número de administrações do medicamento, o que gera uma maior adesão ao tratamento. As tecnologias empregadas para liberar o fármaco de forma gradual devem ser seguras e eficazes e têm o objetivo de manter a concentração plasmática do fármaco em níveis terapêuticos por período prolongado, além de reduzir suas oscilações na circulação sanguínea, evitando níveis subterapêuticos ou tóxicos (PEZZINI; SILVA; FERRAZ, 2007; BASSYOUNI et al., 2013).

Para se formular uma FFSO de liberação prolongada a escolha adequada dos excipientes é de extrema relevância, uma vez que eles fornecerão as características ideais para liberar o fármaco. Esses materiais geralmente são polímeros de origem sintética ou natural (Tabela 1), com características e propriedades indispensáveis para a veiculação do fármaco até o sítio desejado. A atuação destes polímeros pode ocorrer pela formação de estruturas (matrizes ou membranas) microporosas/semipermeáveis; pelo intumescimento em contato com a água e/ou pela formação de complexos com o fármaco (WEN; PARK, 2010).

**Tabela 1** - Polímeros de origem sintética e natural geralmente usados para formas farmacêuticas sólidas de liberação modificada (WEN; PARK, 2010)

<b>Sintéticos</b>	<b>Naturais</b>
Álcool polivinílico (PVA)	Hidroxipropilmetilcelulose (HPMC)
Poli-ácido acrílico (ex.: Carbopol)	Hidroxipropilcelulose (HPC)
Poli- óxido de etileno (PEO)	Etilcelulose
Poloxamers	Metilcelulose (MC)
Pluronic	Carboximetilcelulose
Polimetacrilatos e derivados	Alginato de sódio
(ex.: Eudragit)	Carragena
	Quitosana
	Goma xantana
	Amido (modificado termicamente)

Assim como qualquer outra formulação, as FFSO de liberação modificada também apresentam algumas desvantagens. Para garantir a sua ação terapêutica, deve-se utilizar uma dose do fármaco maior do que nos medicamentos convencionais. Dessa forma, se a forma farmacêutica não apresentar uma estrutura que libere o fármaco gradativamente, o sistema pode liberá-lo de uma única vez, o que pode resultar em níveis tóxicos ao indivíduo. Nesse sentido, o sistema envolvido no processo de liberação do fármaco deve garantir uma liberação lenta e gradual (WEN; PARK, 2010).

Ainda, visando a avaliação do desempenho destas formulações, o ensaio de dissolução apresenta-se como uma importante ferramenta. Este, além de informar sobre a presença de determinada substância ativa e sua concentração liberada a partir de seu sistema em função do tempo, o ensaio é uma ferramenta que possibilita verificar possíveis correlações *in vitro/in vivo* (CIV/IV), detectar desvios de fabricação do medicamento, verificar a uniformidade durante a produção do lote do medicamento, avaliar a qualidade do produto em função do tempo e das

condições de armazenamento, evitar estudos de bioequivalência para formas de menor dosagem e minimizar o risco de falta de bioequivalência entre lotes (MARQUES; BROWN, 2002).

## 2. ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

A liberação do fármaco a partir de uma forma farmacêutica sólida envolve três etapas fundamentais: desintegração, desagregação e, finalmente, dissolução. A dissolução por sua vez, pode ser definida como o processo pelo qual o fármaco é liberado de sua forma farmacêutica e se torna disponível para ser absorvido pelo organismo (ANSEL, POPOVICH; ALLEN JR, 2010; MARQUES; LOEBENBERG; ALMUKAINZI, 2011).

Neste contexto, o ensaio de dissolução é definido como um teste físico no qual o fármaco é submetido à ação de aparelhagem específica e condições experimentais descritas, durante um período de tempo especificado. Nestas condições, o fármaco passa para a sua forma solúvel a partir da forma farmacêutica inicial e a sua quantidade liberada no meio de dissolução é posteriormente quantificada (F. BRAS., 2010). O perfil de dissolução é obtido através da plotagem do percentual de fármaco dissolvido em várias amostras do meio de dissolução, coletadas em intervalos de tempo previamente estabelecidos em função do tempo (ALVES et al., 2012).

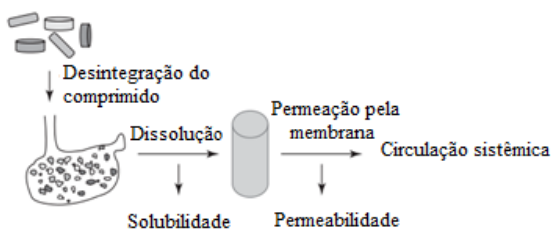
O perfil de liberação permite a determinação da eficiência do processo de dissolução do fármaco, sendo considerado uma técnica rápida e barata quando comparada à avaliação de formas sólidas em testes clínicos (ALVES et al., 2012). Permite também, a obtenção de parâmetros cinéticos que são importantes para avaliar a eficiência do processo, além do tempo necessário para que determinada porcentagem do fármaco se dissolva, possibilitando dessa forma, conclusões a respeito das características físico-químicas *in vitro* de determinada formulação (AGUIAR et al., 2005).

O teste de dissolução tem fundamental importância no conjunto de medidas destinadas a verificar a conformidade do produto no que diz respeito à identidade, atividade, pureza, eficácia, segurança, inocuidade e integridade segundo as especificações mínimas de qualidade preconizadas em compêndios oficiais. Os resultados do teste de dissolução permitem avaliar fatores que podem alterar a solubilidade e a liberação do fármaco a partir da forma farmacêutica e, por conseguinte comprometer sua biodisponibilidade (MARQUES; BROWN, 2002).

O estudo de dissolução é uma etapa crítica para a avaliação da qualidade de FFSO. Especialmente os comprimidos e cápsulas devem ser submetidos ao estudo para que sejam desenvolvidos, fabricados ou controlados (HANSON; GRAY, 2004). Apesar do ensaio de dissolução ser utilizado por diversas razões que incluem seleção do medicamento e CIV/IV, sua aplicação mais frequente refere-se a ensaios de controle de qualidade ou estudos de estabilidade (MARTIN; GRAY, 2011). Por meio dessa análise é possível também comparar formulações em desenvolvimento ou até mesmo especialidades farmacêuticas já comercializadas visando selecionar e destacar aquelas que não correspondem aos critérios estabelecidos pelos compêndios oficiais que poderiam comprometer sua eficácia e segurança (NAINAR et al., 2012).

Como a absorção do fármaco depende da quantidade solubilizada (Figura 2), características de dissolução adequadas são consideradas importantes para garantir o efeito terapêutico desejado. Se a velocidade de dissolução for inferior à de absorção, a liberação passa a ser um fator limitante da absorção e modifica cineticamente a biodisponibilidade do fármaco. Isso faz com que a realização de estudos de dissolução *in vitro* sejam uma ferramenta adequada para verificar o desempenho de uma FFSO no que se refere sua liberação a partir de sua forma farmacêutica e assegurar a qualidade biofarmacêutica do medicamento (NAINAR et al., 2012).

**Figura 2** - Processo esquemático de absorção de fármaco a partir de comprimidos



## 2.1 HISTÓRICO DA DISSOLUÇÃO

A primeira publicação científica que se tem conhecimento sobre dissolução foi elaborada pelos pesquisadores Arthur A. Noyes e Willis R. Whitney em 1897. Esses autores concluíram que a velocidade de solubilização, de acordo com a lei de difusão, seria proporcional à concentração da camada de solução saturada que se forma ao redor da partícula sólida (camada de difusão) e à concentração do restante da solução. A partir dessas observações eles propuseram a equação Noyes-Whitney (Equação 1), a qual é utilizada até os dias de hoje como base para os cálculos matemáticos do processo de dissolução (NOYES; WHITNEY, 1897).

$$\frac{dm}{dt} = K (C_s - C_t) \quad \text{Equação 1}$$

Sendo:

$dm / dt$  = quantidade de substância dissolvida por unidade de tempo (ou velocidade de dissolução do sólido no líquido);

$K$  = constante de velocidade de dissolução;

$C_s$  = solubilidade da substância, que corresponde à sua concentração em um filme de solvente envolvendo a sua superfície;

$C_t$  = concentração da substância no seio do solvente (em um tempo  $t$ );

$C_s - C_t$  = gradiente de concentração.

Em 1900, Brunner e Tolloczko comprovaram que a constante de proporcionalidade na equação de Noyes-Whitney depende da área e da estrutura da superfície exposta do sólido, da intensidade de agitação ou fluxo, da temperatura e do aparato experimental. Eles então propuseram uma modificação na equação de Noyes-Whitney, inserindo a área superficial do fármaco "A", uma vez que essa pode não ser constante como demonstrado na Equação 2 (ABDOU, 1989; MARCOLONGO, 2003)

$$\frac{dm}{dt} = K . A . (C_s - C_t) \quad \text{Equação 2}$$

Nernst em 1904 propôs a teoria do filme, conhecido como modelo de difusão em camada para explicar o processo de dissolução. Modificou-se novamente a equação partindo do pressuposto que uma partícula sólida imersa em um líquido, deve-se considerar a solubilização do sólido em nível de interface ( $C_s$ ), formando uma fina

camada estagnada ou filme (h) ao redor da partícula e a difusão da camada para o seio do líquido ( $C_i$ ). A equação 2 foi então ampliada acrescentando o coeficiente de difusão "D", a espessura da camada de difusão "h" e o volume do meio de dissolução "V" (Equação 3) (ABDOU, 1989).

$$\frac{dC}{dt} = \frac{K \cdot D \cdot A}{V \cdot h} (C_s - C_t) \quad \text{Equação 3}$$

A constante de proporcionalidade K, descrita na equação 3, é conhecida como a velocidade de dissolução intrínseca e é uma característica de cada substância química (MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013).

Em 1931, Hixson e Crowell desenvolveram a chamada "lei da raiz cúbica" para descrever o processo de dissolução. Para esses pesquisadores a velocidade de dissolução de um sólido em um líquido é expressa como função da área da superfície e da concentração. Porém essa lei só se aplica a sistemas que apresentam agitação (HIXSON; CROWELL, 1931).

Os termos inseridos na equação de Noyes-Whitney (Equação 3) podem ser afetados por determinadas condições e consequentemente, afetar a velocidade de dissolução *in vitro*. Os termos são descritos na sequência com seus respectivos fatores de influência (STORPIRTS et al., 1999; WEN; PARK, 2010; MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013):

a) área superficial do sólido não dissolvido (A)

- Tamanho de partícula: o tamanho das partículas irá mudar durante o processo de dissolução;
- Dispersibilidade do pó sólido no meio de dissolução: se as partículas tenderem a formar massas coesas no meio de dissolução, a área superficial disponível para a dissolução será reduzida. Esse efeito pode ser eliminado pela adição de um agente molhante;
- Porosidade da partícula sólida: os poros devem ser grandes o suficiente para permitirem o acesso do meio de dissolução e a difusão, para longe da superfície, das moléculas do soluto dissolvido.

b) solubilidade do sólido no meio ( $C_s$ )

- Temperatura: A dissolução da maioria das substâncias sólidas é um fenômeno endotérmico, portanto aumentos de temperatura tendem a aumentar a velocidade com que uma substância se dissolve;



- Natureza dos meios de dissolução: a solubilidade é função da natureza química da substância a ser dissolvida e do solvente. Tem-se a solubilidade por ionização e a solubilidade por polaridade.
- Estrutura molecular do soluto: a formação de sais (principalmente sais sódico e potássico) é um recurso muito utilizado para aumentar a solubilidade de um ácido fraco. A formação de ésteres leva a uma diminuição da dissolução;
- Formas cristalinas do sólido: substâncias amorfas geralmente são mais solúveis que substâncias cristalinas;
- Presença de outros componentes: a presença de impurezas também é um fator que deve ser considerado, pois podem afetar o processo de dissolução.

c) concentração do soluto (C) na solução em um determinado tempo (t)

- Volume do meio de dissolução a condição *sink*, ou seja, o distanciamento da condição de saturação do meio com o fármaco irá simular a ação de um meio extrator externo, com o objetivo de garantir que a velocidade de dissolução não seja diminuída;
- Qualquer processo que remova o sólido dissolvido do meio de dissolução por exemplo, remoção de soluto por diálise ou por substituição contínua da solução pelo meio de dissolução.

d) constante de velocidade de dissolução (K)

- Espessura da camada limítrofe: o grau de agitação, o qual depende, por sua vez, da velocidade de agitação, da forma e da posição do agitador, do volume do meio de dissolução, da forma e do tamanho do recipiente da viscosidade do meio de dissolução;
- Coeficiente de difusão do soluto: este coeficiente é afetado pela viscosidade do meio de dissolução e pelo tamanho das moléculas que difundem.

O primeiro pesquisador a determinar o perfil de dissolução de um comprimido foi Klein, em 1932, mas foi Elliot, um ano após, que publicou gráficos que mostravam a quantidade de fármaco dissolvido em função do tempo com comprimidos contendo 5 fármacos diferentes, usando o aparelho de Klein (MARCOLONGO, 2003).

Em 1958 Higuchi e colaboradores mostraram que a longa equação de dissolução obtida poderia ser reduzida a uma forma mais simples sob certas circunstâncias, que poderia ser determinada considerando a constante de dissociação dos ácidos e bases envolvidos em um sistema. A partir da década de 60, então, inúmeros artigos

começaram a ser publicados com ensaio de dissolução utilizando ou não aparelhos automáticos e com isso o aparato 1 foi oficialmente aceito em compêndio oficial USP em 1970 (MARCOLONGO, 2003).

Cinco anos após, em 1975, a USP (edição XIX) recomendou os dois aparatos (cesto e pá). A partir daí um aumento exponencial de monografias utilizando os aparatos 1 e 2 foram publicados na USP. Em 1970, por exemplo, havia 12 monografias publicadas, aumentando para 60 em 1980, 462 em 1990 e 630 em 2002 (MARCOLONGO, 2003).

## 2.2 APARATOS FARMACOPEICOS

### 2.2.1 Aparatos 1 e 2

A técnica de dissolução nos aparatos 1 e 2 é realizada no mesmo equipamento, porém com a diferença no sistema de agitação. No aparato 1, este consiste do cesto (Figura 3), enquanto que no 2, consiste da pá (Figura 4).

O aparato 1 consiste de um agitador, haste de aço inox, com uma cesta desmontável do mesmo material em sua extremidade. A tela utilizada para a confecção da cesta deve ter um fio de espessura 0,254 mm de diâmetro e 0,381mm de abertura a menos que outra especificação conste na monografia do produto. Este método é utilizado para formas farmacêuticas (comprimidos ou cápsulas) que flutuam no meio de dissolução (HANSON; GRAY, 2004).

**Figura 3** - Foto ilustrativa do sistema de agitação do aparato 1 sendo A: haste que fixa o cesto e B: cesto. Fonte ISBEC, 2015

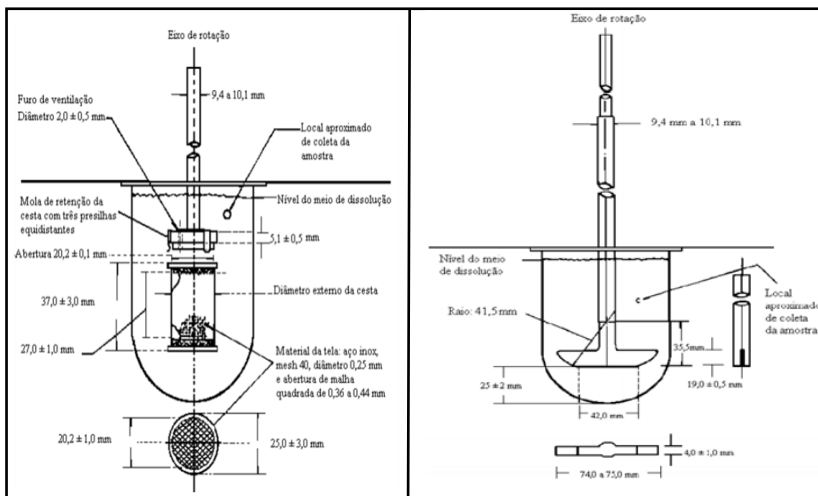


**Figura 4** - Foto ilustrativa do sistema de agitação do aparato 2 (pás). Fonte ISBEC, 2015



O aparato 2 consiste de um agitador (haste de aço inoxidável) apresentando em sua extremidade uma lâmina (pá), formando um conjunto único e geralmente revestido de material inerte (polifluor-carbono). Caso a cápsula flutue gerando resultados não reprodutíveis, a amostra pode ser envolvida com um fio metálico em espiral chamado sinker ou âncora, com poucas voltas, tendo o cuidado especial para que a mesma fique mais frouxa e que não seja danificada durante a operação (HANSON; GRAY, 2004). A Figura 5 mostra os aparatos 1 e 2 após montagem e de acordo com o preconizado pela Farmacopeia Brasileira (2010).

Figura 5 - Esquema dos aparatos 1 e 2 após montagem. Fonte: (F. BRAS., 2010)



O equipamento de dissolução (Figura 6) onde os agitadores do tipo cesta ou pá são acoplados, consiste de um sistema contendo frascos de forma cilíndrica (chamados de cubas), com fundo arredondado, de vidro, plástico ou outro material transparente e inerte (que não reaja ou adsorva a formulação e não interfira nos resultados do teste) e com a capacidade de até 1 litro. As cubas são imersas em banho de água termostatizado, de material transparente e tamanho adequado, a  $37 \pm 0,5$  °C durante a execução do teste. Após acoplar os agitadores, as cubas são cobertas com uma tampa composta de um orifício maior para passar o agitador e outro para realizar a coleta de amostras. O sistema permite manter uma agitação constante de 25 até 150 rpm, a qual é selecionada de acordo com a monografia específica de cada fármaco analisado. A montagem do aparelho deve permitir a visualização das amostras testadas e dos agitadores durante o teste (HANSON; GRAY, 2004; F. BRAS., 2010; USP, 2011).

**Figura 6** - Foto ilustrativa do aparato 2 de dissolução (USP). Fonte: Erweka, 2015



O procedimento empregado durante o ensaio deve ser condizente com os compêndios oficiais. A Farmacopeia Americana e Brasileira determinam que a forma farmacêutica (comprimido ou cápsula) seja inserida unitariamente em cada cuba contendo o meio de dissolução desgaseificado a 37°C. No momento da introdução das amostras inicia-se a agitação com velocidade pré-estabelecida. Estipula-se o tempo de coleta e retira-se a alíquota para posteriormente ser filtrada e quantificada e assim obter o perfil de dissolução do produto. O meio de dissolução, assim como a velocidade de agitação são estabelecidos de acordo com a monografia de cada fármaco analisado. A porcentagem de fármaco dissolvido num determinado tempo também deve estar de acordo com a monografia do produto (F. BRAS., 2010; USP, 2011).

### **2.2.2 Aparato 3 (Bio-Dis)**

O aparato 3, chamado de cilindros recíprocos ou conhecido também por Bio-Dis, é considerado o primeiro aparato desenvolvido para formas farmacêuticas de liberação prolongada, devido a sua utilidade e conveniência em expor os produtos à ação mecânica, bem como uma variedade de condições físico-químicas que podem influenciar a liberação do produto no TGI. O desenvolvimento do aparato tipo 3 foi baseado na necessidade de estabelecer uma CIV/IV e o seu desenho foi baseado no teste de desintegração (DRESSMAN; KRAMER, 2009).

Foi introduzido na Farmacopeia Americana em 1990, mas até hoje seu uso ainda é limitado pelo restrito número de monografias padronizando seu uso. O sistema (Figura 7) é composto de uma série de cubas de dissolução de vidro de fundo plano, com capacidade de 250 mL, uma série de cilindros recíprocos, conexões desenhadas de modo a se adaptarem às extremidades superior e inferior dos cilindros, um motor que permita aos cilindros oscilarem verticalmente dentro dos copos de dissolução e os transfiram horizontalmente de uma série de cubas para outra série. O funcionamento do equipamento ocorre de forma que cada unidade de dosagem é colocada em um recipiente/cilindro separado, permitindo que a liberação seja estudada individualmente. Durante o ensaio, os cilindros se movem para cima e para baixo, sendo possível alterar a velocidade do movimento em cada meio. A grande vantagem desse equipamento é avaliar o perfil de liberação do fármaco permitindo que a mesma amostra seja exposta a diferentes condições de pH e composição de meio conforme ocorre *in vivo* (KLEIN, et al., 2008; PEZZINI; FERRAZ, 2009; KOSTEWICZ et al., 2014)

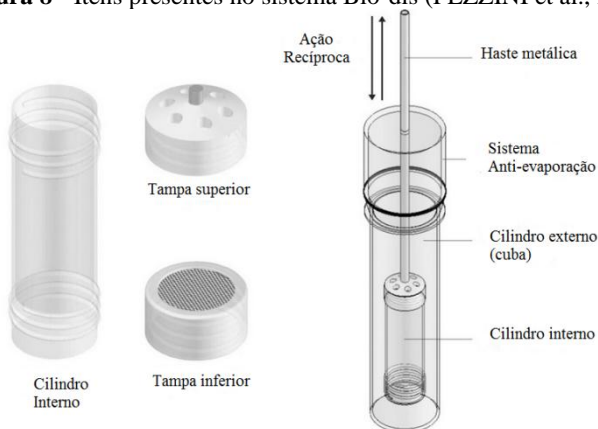
**Figura 7** - Imagem de um aparelho Bio-dis. Fonte: Erweka, 2015



A amostra é inserida dentro do cilindro interno, acopla-se as tampas superior e inferior uma rede de malha de tamanho variável. Anexa ao sistema a haste e o sistema de anti-evaporação para posteriormente introduzir no equipamento (Figura 8). Esse sistema sofrerá uma ação recíproca imergindo a amostra dentro da cuba diversas vezes por minuto, estabelecendo uma agitação em imersão por minutos (dip/min). Tanto os dips como o tempo que a amostra irá permanecer em cada cuba e o tempo de espera para trocar de cuba são dados ajustáveis no equipamento. E, assim como o aparato 1 e 2, o

banho é transparente e deve permanecer na temperatura de  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$  (KOSTEWICZ et al., 2014).

**Figura 8** - Itens presentes no sistema Bio-dis (PEZZINI et al., 2015)



## 2.3 VARIÁVEIS QUE AFETAM O ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

O ensaio de dissolução só é significativo se mesmo após a repetição do ensaio os resultados apresentem-se iguais. Para obter-se a reprodutibilidade, é necessário conhecer, controlar e padronizar todas as variáveis que possam afetar o ensaio. Essas variáveis são divididas em 4 categorias e devem funcionar de forma conjunta e harmoniosa (WEN; PARK, 2010; MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013)

### 2.3.1 Instrumental

- Nivelamento do aparelho:* aparelho deve estar adequadamente nivelado em relação à mesa de superfície.
- Excentricidade:* o eixo de rotação (cesta ou pá) deve coincidir em todos os pontos com o eixo central da cuba, sendo permitido um desvio de  $\pm 2$  mm de centralização. As hastes devem girar sem desviar deste eixo, sem excentricidade perceptível ou significativa. Os desvios superiores ao citado causam um aumento na taxa de dissolução.
- Alinhamento do sistema de agitadores:* O sistema de agitadores não deve desviar acima de 0,2 cm em relação ao eixo vertical do recipiente que está dentro da faixa de 2 mm de centralização, correspondendo a cerca de  $1,5^\circ$  de ângulo máximo de inclinação da haste. Recomenda-se

nivelar cuidadosamente o banho de dissolução e o plano que sustenta os agitadores.

d) *Vibração*: o ideal é que não exista vibração no sistema, pois esta pode alterar o fluxo laminar e introduzir energia dinâmica indesejável o que pode causar mudanças na cinética de dissolução de alguns produtos.

e) *Velocidade de agitação*: é uma variável crítica no processo de dissolução. As variações de velocidade devem ser evitadas durante o teste, pois acelerações periódicas podem causar turbulência no fluido e levar a resultados não esperados. A velocidade de rotação influencia as características da interface (líquido/sólido), entre o meio de dissolução e a forma de dosagem. De acordo com as especificações farmacopéicas a velocidade deve ser mantida dentro de limites de  $\pm 4\%$ .

f) *Temperatura*: tanto a dissolução quanto a solubilidade de um fármaco são influenciadas pela elevação da temperatura, dessa forma recomenda-se que a temperatura do teste seja monitorada para não permitir grandes variações. A temperatura especificada e adequada é de  $37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

g) *Posicionamento da haste*: a distância vertical da cesta ou pá em relação ao fundo do cuba é de  $2,5 \pm 0,2\text{ cm}$

### 2.3.2 Técnica de dissolução

a) *Diferença de pH do meio*: o meio de dissolução deve ser preparado de um modo único para que não haja variação de pH entre os meios em cada cuba de dissolução. Permite-se uma variação de 0,05 unidade em relação ao especificado na monografia de cada produto.

b) *Presença de gases dissolvidos*: a presença de gases no meio de dissolução, pode alterar significativamente os resultados de percentual dissolvido da substância ativa. Estes podem provocar mudanças no movimento das partículas, causar turbulência no meio e diminuir o contato entre o líquido e o sólido formando bolhas na superfície da forma farmacêutica.

c) *Volume do meio de dissolução*: O volume do meio de dissolução deve ser mantido constante em cada cuba. A faixa especificada de variação de volume deve ser menor que 1%.



### 2.3.3 Operacional

- a) *Evaporação do meio de dissolução*: A cuba de dissolução deve permanecer coberta com a respectiva tampa durante todo o teste, para evitar a evaporação do meio.
- b) *Posição de amostragem*: o ponto de coleta da amostra situa-se a meia distância entre a superfície do meio de dissolução e o topo da cesta ou pá e não menos que 1cm da parede da cuba.
- c) *Montagem do equipamento*: deve ser feita corretamente e com todas as hastes devidamente alinhadas
- d) *Meio de dissolução*: o meio deve ser preparado conforme compêndios oficiais, verificado pH em equipamento calibrado e deve ser devidamente desgaseificado.
- e) *Introdução da amostra*: A amostra deve ser introduzida no equipamento no local pré determinado e em tempo cronometrado.
- f) *Coleta das amostras*: as amostras devem ser coletas exatamente no tempo pré-estabelecido e imediatamente filtradas, diluídas quando necessário e quantificadas.

A Tabela 2 apresenta algumas variáveis propostas por Hanson (2004) mostrando os desvios máximos permitidos, desvios comumente esperados e os efeitos dos excessos no ensaio de dissolução.

**Tabela 2** - Desvio máximo permitido e desvios comuns de algumas variáveis presentes no ensaio de dissolução (HANSON; GRAY, 2004)

Variável	Desvio Máximo	Desvios comuns	Efeito do Excesso
<b>Excentricidade</b>	± 2 mm (oficial) ± 0,75mm (ideal)	2 - 5 mm	+ 4 - 8%
<b>Vibração</b>	0,1 mils	0,2 - 0,9 mils	+ 5 - 10%
<b>Alinhamento</b>	1,5° do eixo perpendicular	2 - 7°	+ 2 - 25%
<b>Centralização</b>	± 2mm	± 2 - 6 mm	± 2 - 13%
<b>Agitação</b>	± 4% oficial	± 10%	linear
<b>Gás dissolvido</b>	Desgaseificado	± 50%	bolhas
<b>pH meio</b>	± 0,05	> 0,05	± 10%
<b>Evaporação</b>	Não há	2 - 5%	linear
<b>Temperatura</b>	± 0,5 ± 0,1 (ótimo)	1 - 2°C	linear
<b>Posição de amostragem</b>	Oficial	± 0,5cm	pequeno

Além das variáveis presentes durante a técnica de dissolução, os fatores característicos do fármaco e/ou da forma farmacêutica podem também influenciar tanto no perfil de dissolução como na absorção do fármaco (WEN; PARK, 2010; SILVA, 2013; JAMBHEKAR E BREEN, 2013).

### 2.3.4 Fármaco e/ou forma farmacêutica

a) *Polimorfo e amorfo*: Polimorfo nada mais é do que um insumo com a mesma fórmula química mas com diferentes formas cristalinas e amorfo é caracterizado o insumo que apresenta a estrutura cristalina desordenada no espaço tridimensional. Essas características do fármaco estão diretamente ligadas à sua solubilidade e biodisponibilidade, interferindo na taxa de dissolução e velocidade de absorção do fármaco. Em geral as substâncias de características amorfas tem maior solubilidade e maior velocidade de dissolução quando comparada a sua estrutura cristalina.

b) *Solubilidade*: Para um fármaco exercer efeito este precisa estar solúvel e a solubilidade pode ser influenciada por fatores fisiológicos como pH. Sabendo previamente da solubilidade e pKa de um fármaco é possível prever sua dissolução no TGI e futuros problemas com a biodisponibilidade. Por exemplo, um fármaco de característica ácida será mais solúvel no intestino pois estará na forma mais ionizada, ou seja, com características mais lipossolúveis permeando mais facilmente pelas membranas lipídicas.

c) *Higroscopicidade*: fármacos na forma anidra possuem maior atividade termodinâmica em comparação com seus hidratos e consequentemente, maior solubilidade e velocidade de dissolução.

d) *Tamanho de partícula*: a redução do tamanho da partícula acelera a velocidade de dissolução devido ao aumento da área superficial em contato com o solvente.

e) *Excipientes da fórmula*: os excipientes podem interagir com o fármaco e resultar em uma formulação mais ou menos solúvel. Por exemplo, para fármacos pouco solúveis, a adição de um desintegrante pode acelerar a desintegração da forma farmacêutica liberando mais rapidamente o fármaco. As escolhas dos excipientes podem mudar drasticamente o perfil de liberação de um fármaco.

f) *Força de compressão*: a força de compressão sofrida pelos comprimidos pode alterar o perfil de dissolução sendo que quanto

maior a dureza do comprimido mais coesas estão as partículas e consequentemente apresentará uma liberação mais lenta.

## 2.4 MEIO DE DISSOLUÇÃO

Uma das etapas mais críticas do ensaio de dissolução é a escolha adequada do meio. O primeiro passo a ser tomado antes de escolher o meio é avaliar as características do fármaco quanto à sua solubilidade e local de liberação. Por exemplo, para uma formulação com liberação entérica deve-se escolher pelo menos um tampão com dois valores de pH distintos, simulando um pH mais baixo (estômago) e um pH mais elevado (primeira porção do intestino). Por outro lado, um fármaco cuja liberação seja retardada, a escolha de um meio de dissolução com pH elevado é primordial para simular as condições do intestino. A compreensão do pKa da substância analisada também deve estar bem esclarecida pois influi diretamente no grau de ionização e consequentemente na solubilidade. Um fármaco fracamente solúvel em água pode requerer a adição de agentes tensoativos no meio de dissolução (FDA, 1997; USP, 2011)

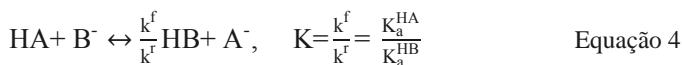
O uso de agentes tensoativos como dodecil sulfato de sódio, polissorbato 80 e lauril sulfato de sódio são descritos para uso em ensaios de dissolução de fármacos com baixa solubilidade nos compêndios oficiais. Seu uso nos ensaios pode reduzir a tensão superficial (concentrações mais baixas) ou formar micelas e auxiliar na solubilização (concentrações maiores) (MARTIN; GRAY, 2011).

Os meios de dissolução utilizados durante o ensaio são geralmente o ácido clorídrico (HCl), tampões acetato, citrato e fosfato variando o pH entre 1 e 7,6. No entanto, a capacidade tamponante desses meios varia muito, mesmo quando estão sob os mesmos valores de pH influenciando diretamente a velocidade de dissolução de fármacos ionizáveis (CORRIGAN; DEVLIN; BUTLER, 2003). Muitos pesquisadores já comprovaram o quanto a escolha do meio de dissolução afeta diretamente no resultado do teste de dissolução. Uma avaliação da dissolução do fármaco cloridrato de quinidina em água, em tampão acetato pH 5,4 e em tampão fosfato pH 5,4 mostrou que em tampão acetato a velocidade era mais rápida que em tampão fosfato. Isso ocorre não só porque a capacidade tamponante do meio pode afetar a dissolução de um fármaco mas também os excipientes da formulação. Verificou-se que a presença de excipientes de caráter ácido pode reduzir a velocidade de dissolução do fármaco (PRASAD et al., 1983; SKELLY et al., 1986).

O meio de dissolução de caráter básico mais comum descrito nas farmacopeia é o tampão fosfato. Apesar desse tampão não ser o principal constituinte dos fluidos gastrointestinais, o tampão fosfato domina os mais diversos compêndios oficiais sendo associado ou não a sais biliares, eletrólitos, enzimas e/ou lipídeos. Muitos estudiosos defendem que o uso do tampão bicarbonato de sódio deveria ser o meio empregado, uma vez que este simula melhor as condições *in vivo*, e assemelha-se ao TGI dos mamíferos incluindo os humanos. O bicarbonato de sódio é secretado ativamente pelo pâncreas para neutralizar a secreção gástrica no lúmen GI e as células epiteliais do duodeno também são capazes de secretá-lo como mecanismo de proteção do epitélio duodenal (SHENG; McNAMARA; AMIDON, 2009).

Estudo realizado por Sheng e colaboradores (2009) mostrou que há diferença significativa na velocidade de dissolução intrínseca de fármacos de classe farmacêutica II, com por exemplo o cetoprofeno e a indometacina quando esses são submetidos a ensaio de dissolução *in vitro* com tampão fosfato e tampão bicarbonato. A característica físico-química do fármaco e do meio de dissolução afetam diretamente o perfil de dissolução. Para fármacos de classe II com valores altos de pKa a taxa de dissolução é pouco influenciada. No entanto para fármacos com característica de ácidos fracos, com pKa inferior a 5,5 (a maior parte dos fármacos pertencentes à classe II) ocorre um aumento na velocidade de dissolução de 50 a 200%. Nesse caso, para haver uma semelhança do tampão fosfato frente ao tampão bicarbonato seria necessário readequar a quantidade de fosfato disponível na solução, o que na prática se torna pouco operacional.

Não apenas a concentração do tampão como também o tipo de tampão no meio de dissolução pode ter um impacto significativo nos ensaios de dissolução de fármacos ionizáveis mesmo se o pH dos diferentes tampões for o mesmo. Isso ocorre porque o pKa do tampão desempenha um papel importante na força motriz para a reação entre o fármaco ácido e o tampão básico. A Equação 4 demonstra a dissolução de um fármaco na interface sólido-líquido (SHENG; McNAMARA; AMIDON, 2009).



Esta equação mostra que com um tampão básico cujo pKa é mais elevado ocorre uma menor  $K_a^{HB}$  produzindo um equilíbrio na

constante K para a reação. Isso explica porquê o tampão fosfato apresentou melhores resultados comparado ao bicarbonato. O tampão fosfato apresenta um pKa de 7,19 e o bicarbonato um pKa de 6,1, em contato com um fármaco ácido o tampão com valor de pKa mais elevado fornecerá maior força motriz para a reação promovendo uma dissolução mais rápida (SHENG; McNAMARA; AMIDON, 2009).

A concentração do meio de dissolução deve ser mantida constante durante ensaio. O valor de pH no início do ensaio deve ser o mesmo ao final do ensaio. Com isso é possível verificar se o meio tinha capacidade tampão suficiente para manter o pH constante (MARTIN; GRAY, 2011).

### 2.4.1 Meios biorrelevantes

Outra alternativa usada para simular os fluidos gastrointestinais é a utilização de meios biorrelevantes. Esses meios apesar de mais caros são úteis para fornecer uma previsão qualitativa da formulação e efeito dos alimentos sobre a dissolução e disponibilidade dos fármacos administrados por via oral. Isso se dá porque os meios biorrelevantes podem fornecer uma simulação mais precisa de perfis farmacocinéticos do que o fluido gástrico e entérico simulado (SAMAHA; SHEHAYEB; KYRIACOS, 2009) já que sua composição prevê as secreções biliares e presença de produtos lipolíticos e enzimáticos assim como capacidade tamponante e pressão osmótica pelo TGI (JANTRATID; DRESSMAN, 2009).

O uso do meio biorrelevante em ensaio de dissolução foi descrito pela primeira vez em 1998 simulando o intestino em estado de jejum e alimentado. Surge então as expressões FaSSIF (fluido intestinal simulado em jejum) e FeSSIF (fluido intestinal simulado alimentado), que do inglês significa "*Fasted-state simulated intestinal fluid*" e "*Fed State Simulated Intestinal Fluid*" (GALIA et al., 1998). Estes meios são capazes de aumentar a taxa de dissolução e solubilidade pois o fármaco é introduzido dentro de micelas de taurocolato de sódio/lecitina. Vários estudos mostram que ensaio de dissolução em meio biorrelevante apresenta uma maior CIV/IV porém os resultados são melhor descritos para fármacos classe II (DRESSMAN; REPPAS, 2000).

A composição do meio biorrelevante tenta assemelhar-se aos fluidos gastrointestinais, simulando as enzimas biliares e tensoativos endógenos com taurocolato de sódio e lecitina de soja. A composição do meio FaSSIF e FeSSIF pode ser observada na Tabela 3. Há estudos que indicam que esse sistema foi capaz de aumentar em 30 vezes a

solubilidade de um fármaco classe II nomeado como ABT-102 (FRANK, et al.,2012)

**Tabela 3-** Composição e propriedades do meio FaSSIF e FeSSIF. Fonte: Biorelevant, 2015

<b>Composição e propriedades</b>	<b>FaSSIF pH 6,5</b>	<b>FeSSIF pH 5,0</b>
Taurocolato de sódio (mM)	3,0	15
Lecitina (mM)	1,75	3,75
Cloreto de sódio (mM)	105,9	203,2
Hidróxido de sódio (mM)	8,7	101,0
Fosfato de sódio monobásico (mM)	28,4	-
Ácido acético (mM)	-	144,1
Osmolalidade (mOsm/kg)	270 ± 10	670 ± 10
Capacidade tamponante (mM/ $\Delta$ pH)	10	76

## 2.5 MODELOS ESTATÍSTICOS PARA COMPARAÇÃO DOS ENSAIOS DE DISSOLUÇÃO

São descritos na literatura três principais métodos utilizados para comparar perfis de dissolução. São eles:

1) *Método baseado na análise de variância (ANOVA)* - determina através de repetidos ensaios, as fontes de variação (tempo, produto e interação entre tempo *versus* produto) (YUKSEL; KANIK; BAYKARA, 2000).

2) *Método modelo independente* - são os testes combinados como os fatores *f1* (fator de diferença) e *f2* (fator de similaridade), que comparam diretamente a diferença entre a porcentagem de fármaco dissolvida em uma unidade de tempo para os produtos testes e referência (SERRA; STORPIRTIS, 2007)

3) *Método modelo dependente* - são baseados em funções matemáticas distintas que, após seleção de uma função adequada, permitem a avaliação dos perfis em relação aos parâmetros derivados dos modelos aplicados. Os exemplos mais comuns encontrados na literatura são: ordem zero, primeira ordem, Hixon-Crowell, Higuchi e Kosmeyer Peppas (POLLI; REKHI; SHAH, 1996; O'HARA et al., 1998; SIEPMANN; SIEPMANN; SIEPMANN, 2013).

Uma comparação mais fidedigna entre dois produtos pode ser obtida também calculando a eficiência de dissolução (ED), inicialmente proposta por Khan e Rhodes em 1975. Este parâmetro esta relacionado com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvida no meio,

podendo com isso se ter um melhor prognóstico dos resultados *in vivo* (KHAN; RHODES, 1975; OFOEFULE; UDEOGARANYA; OKONTA, 2001).

## 2.6 CRITÉRIOS DE ACEITAÇÃO DE TESTES DE DISSOLUÇÃO PARA FFSO DE LIBERAÇÃO MODIFICADA

De acordo com compêndios oficiais como USP e Farmacopeia Brasileira, a amostra será satisfatória se os resultados cumprirem as seguintes exigências:

- *Estágio L1*: Cada resultado individual se insere no intervalo estabelecido da quantidade mínima e máxima de fármaco para cada determinado tempo e nenhum resultado individual é inferior à concentração de fármaco do último tempo.
- *Estágio L2*: Nenhuma unidade individual apresenta resultado que supera os limites da quantidade mínima e máxima de fármaco em 10%, para cada determinado tempo, e nenhum resultado individual fornece valor inferior à concentração de fármaco do último tempo que supera em 10% a quantidade declarada.
- *Estágio L3*: Não mais que 2 unidades testadas apresentam resultados que superam os limites das concentrações mínimas e máximas de fármaco em 10%, para cada determinado tempo, e não mais que 2 unidades apresentam resultados com valor inferior à concentração do último tempo que superem em 10% a quantidade declarada. Nenhuma unidade individual apresenta resultado que supera os limites da concentração mínima e máxima de fármaco em 20%, para cada determinado tempo, e nenhum resultado individual fornece valor inferior à concentração do último tempo que supera em 20% a quantidade declarada. (F. BRAS., 2010; USP, 2011).

## 2.7 O SISTEMA DE CLASSIFICAÇÃO BIOFARMACÊUTICA (BCS) E SEU IMPACTO NA DISSOLUÇÃO

O Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS) é uma ferramenta utilizada para a classificação de um fármaco com base na sua solubilidade aquosa e permeabilidade intestinal, sendo classificada como de classe I, II, III ou IV (AMIDON, et al., 1995).

O teste de dissolução pode prever o desempenho *in vivo* de medicamentos e identificar se a biodisponibilidade de determinado produto farmacêutico é sensível a alterações do processo produtivo, dos constituintes da formulação ou da concentração do fármaco. Dessa

forma, com a classificação biofarmacêutica do fármaco é possível correlacionar a dissolução *in vitro* com a biodisponibilidade *in vivo* (HANNA, 2010).

Segundo o BCS a solubilidade de determinado fármaco é considerada alta quando a maior dose empregada é solúvel em até 250 mL de um meio aquoso, numa faixa de pH de 1 a 7,5. A expectativa de CIV/IV para medicamentos de liberação imediata e de liberação modificada estão apresentadas nas Tabelas 4 e 5, respectivamente (NAINAR, 2012).

**Tabela 4** - Expectativa de correlação *in vitro/in vivo* (CIV/IV) para medicamentos de liberação imediata. Fonte: NAINAR, 2012

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Expectativa CIV/IV
<b>I</b>	Alta	Alta	CIV/IV esperada se a velocidade de dissolução for mais lenta do que o esvaziamento gástrico, caso contrário limitada ou nenhuma correlação
<b>II</b>	Baixa	Alta	CIV/IV esperada se a velocidade de dissolução <i>in vitro</i> for similar a velocidade de dissolução <i>in vivo</i> , a menos que a dose seja alta
<b>III</b>	Alta	Baixa	A absorção (permeabilidade) é determinante. Espera-se limitada ou nenhuma correlação
<b>IV</b>	Baixa	Baixa	Limitada ou nenhuma correlação



**Tabela 5** - Expectativa de correlação *in vitro/in vivo* para medicamento de liberação modificada (NAINAR, 2012)

Classe	Solubilidade	Permeabilidade	Expectativa CIV/IV
<b>Ia</b>	Alta e sítio independente	Alta e sítio independente	Há correlação se a dissolução for uma etapa determinante
<b>Ib</b>	Alta e sítio independente	Dependente do sítio de absorção	Correlação esperada
<b>IIa</b>	Baixa e sítio independente	Alta e sítio independente	Variável
<b>IIb</b>	Baixa e sítio independente	Dependente do sítio de absorção	Baixa ou sem correlação
<b>III</b>	Alta	Baixa	Baixa ou sem correlação
<b>IV</b>	Baixa	Baixa	Baixa ou sem correlação
<b>Va*</b>	Variável	Variável	Baixa ou sem correlação
<b>Vb*</b>	Variável	Variável	Correlação esperada

\* Fármacos que tem solubilidade e permeabilidade variáveis são classificados como classe V. Classe Va inclui os fármacos ácidos e Vb os fármacos básicos

## 2.8 CORRELAÇÃO *IN VITRO/IN VIVO*

Nos últimos anos tem se dado destaque para o conceito e aplicação da CIV/IV e isso se dá pela necessidade de minimizar o número de estudos de biodisponibilidade como parte do desenvolvimento de formulações. O FDA define essa correlação como "um modelo matemático que descreve a relação preditiva entre o comportamento *in vitro* de uma forma farmacêutica e a resposta *in vivo*". Entende-se por comportamento *in vitro*, a taxa de dissolução ou liberação do fármaco enquanto que a resposta *in vivo* seria a concentração ou a quantidade de fármaco absorvido. A Farmacopeia Americana (USP) por sua vez, define a CIV/IV como "a relação entre uma propriedade biológica e uma propriedade físico-química produzida a partir de uma forma farmacêutica" (USP, 2011).

As condições fisiológicas no TGI podem afetar a dissolução do fármaco. Isso inclui fatores como composição, volume e pH do meio, esvaziamento gástrico, trânsito intestinal, motilidade gastrointestinal, padrões hidrodinâmicos, enzimas gastrointestinais, presença ou ausência de alimentos. Carboidratos e proteínas, por exemplo, tendem a ser esvaziados do estômago em menos de 1 h enquanto que lipídios podem ficar no estômago por mais de 1 h. No geral, o tempo de trânsito

da cavidade oral até a região do ceco é mais previsível, levando de 3 a 7 h. Por outro lado, o trânsito no cólon é altamente variável, levando cerca de 10-20 h (WEN; PARK, 2010). Uma seleção adequada de condições *in vitro* que possam levar a uma melhor CIV/IV e a escolha de um mecanismo que cumpra esse requisito, simulando as condições *in vivo*, torna-se um desafio e atrai interesse dos pesquisadores (SHENG; McNAMARA; AMIDON, 2009; WANG; FOTAKI; MAO, 2009). As variações de valores de pH e tempo de trânsito de acordo com a região do TGI são sumarizadas na Tabela 6.

Cada região do TGI apresenta um determinado tempo de residência e um valor de pH e que podem apresentar variações individuais e por determinados processos patológico. Estas condições também podem ser bastante influenciadas pelo estado alimentado do indivíduo interferindo na dissolução de um medicamento. A presença de alimento tende a atrasar o esvaziamento gástrico conforme verificado na Tabela 6.

**Tabela 6** - Valores de pH e tempo de trânsito para os diversos sítios do TGI (WEN; PARK, 2010)

Sítio	Em jejum		Alimentado	
	pH	Tempo de trânsito (h)	pH	Tempo de trânsito (h)
Estômago	1 – 3,5	0,25	4,3 – 5,4	1
Duodeno	5 – 7	0,26	5,4	0,26
Jejuno	6 – 7	1,7	5,4 – 6,0	1,7
Íleo	6,6 – 7,4	1,3	6,6 – 7,4	1,3
Ceco	6,4	4,5	6,4	4,5
Cólon	6,8	13,5	6,8	13,5

A CIV/IV pretende estabelecer uma relação racional entre uma propriedade ou efeito biológico produzido pelo fármaco e uma propriedade ou característica físico-química dessa formulação. As propriedades biológicas mais empregadas são  $C_{m\acute{a}x}$  (concentração máxima do fármaco atingida no plasma) ou  $t_{m\acute{a}x}$  (tempo no qual  $C_{m\acute{a}x}$  é alcançado). Esses dados podem ser obtidos após administração da forma farmacêutica a voluntários participantes do ensaio de biodisponibilidade. Já as propriedades físico-químicas mais aplicadas referem-se à cinética de dissolução *in vitro*. Busca-se então estabelecer uma relação entre as duas propriedades biológicas e físico-químicas que possa ser expressa quantitativamente. Se isso for possível, os dados

obtidos *in vitro* poderão prever o comportamento do produto *in vivo* (MARCOLONGO, 2003).

### 3 CLORIDRATO DE METFORMINA

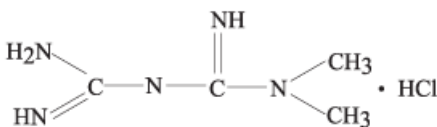
A metformina é um fármaco antidiabético pertencente à classe das biguanidas, introduzido no mercado em 1957 para o tratamento de diabetes não insulino dependente (tipo 2). De acordo com pesquisa no bulário da ANVISA (BRASIL, 2015 a), no Brasil, atualmente, este fármaco é comercializado na forma farmacêutica de comprimido de liberação prolongada, nas doses de 500 mg e 750 mg, sendo produzido pelo laboratório Merck S/A.

Este fármaco apresenta a vantagem de reduzir os níveis de glicose sem causar hipoglicemia clínica, sem causar ganho de peso e sem elevar as concentrações de insulina periférica. Dessa forma, é amplamente utilizado como monoterapia ou associado a sulfonilureias (BAILEY, 1993; GOODARZI; BRYER-ASH, 2005).

#### 3.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

De acordo com o Sistema de Classificação Biofarmacêutica o cloridrato de metformina é classificada como sendo Classe III pelo sistema BCS, ou seja, apresenta elevada solubilidade e baixa permeabilidade. Possui um pKa de 11,5 tornando-a uma base forte e com menos de 0,01% de espécie ionizada no sangue. Apresenta um logP para espécie não ionizada entre octanol e água de -1,43 o que significa uma baixa lipofilicidade e consequente baixa difusão passiva através das membranas celulares (GRAHAM et al., 2011). Seu peso molecular é de 119,16 g/mol, e sua estrutura química é apresentada na Figura 9.

**Figura 9** - Estrutura química do cloridrato de metformina



### 3.2 MECANISMO DE AÇÃO

O seu mecanismo exato de ação ainda não foi completamente elucidado. Sabe-se que a principal ação glicoreguladora da metformina parece ocorrer principalmente no fígado para reduzir a produção de glicose e, nos tecidos periféricos para aumentar a absorção de glicose. A maioria dos estudos mostram uma redução da glicose hepática em jejum após a administração de metformina e mesmo quando ela é ingerida por pacientes não diabéticos ela não induz hipoglicemia (HUNDAL; INZUCCHI, 2003; GOODARZI; BRYER-ASH, 2005)

A metformina deve ser administrada com as refeições, iniciando com a dose de 500 mg 1 a 2 vezes ao dia, aumentando a dose lentamente para evitar reações gastrointestinais. É essencial que os pacientes com problemas renais não utilizem o fármaco afim de evitar um acúmulo do fármaco que possa gerar acidose láctica (BAILEY, 1993)

### 3.3 FARMACOCINÉTICA

Chamada quimicamente de cloridrato de 1,1-dimetilbiguanida, sob condições fisiológicas a metformina é protonada no grupo imino central. Apresenta 50 a 60% de biodisponibilidade e é absorvida na primeira porção do intestino com um  $t_{1/2}$  de 1,5 a 4,9 horas. Para doses única e oral de metformina, possui um *clearance* de 718 – 1552 mL/min e sua eliminação é predominante pelos túbulos renais, com cerca de 90% eliminada pela urina em 12 h (BAILEY, 1993).

## 4 CETOPROFENO

O cetoprofeno é um anti-inflamatório não esteroideal (AINE) quimicamente conhecido como ácido 2-[3-(benzoi) fenil] propanoico possuindo propriedades analgésica, antipirética e anti-inflamatória. É disponível comercialmente como uma mistura racêmica dos enantiômeros (R) e (S) devido ao custo de separação dos mesmo que encareceria o produto e deixaria de ser viável comercialmente (ONG; KAMARUDDIN; BHATIA, 2005).

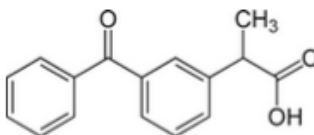
No Brasil é possível encontrar as seguintes formas farmacêuticas contendo cetoprofeno: injetável, gel, solução oral, comprimidos revestidos ou não e cápsulas (BRASIL, 2015 a). As formas farmacêuticas orais apresentam doses de 12,5; 25; 50 e 75 mg em cápsulas gelatinosa de liberação imediata em doses de 100, 150 ou

200 mg em cápsulas ou comprimidos de liberação prolongada ou estendida (OLIVEIRA; NASCIMENTO; LIMA, 2011). O laboratório Sanofi-Aventis Farmacêutica é o único que disponibiliza o cetoprofeno com o nome comercial Profenid Retard®, na dose de 200 mg, sob a forma farmacêutica de comprimido de liberação prolongada.

#### 4.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Trata-se de um ácido fraco com pKa de 4.39, 4.45 e 4.76 a 25°C. A solubilidade do cetoprofeno é descrita em compêndios oficiais como praticamente insolúvel em água a temperatura ambiente (cerca de 0,010 mg/mL). Porém a sua solubilidade em tampão fosfato pH 6,5 é de 3,31 mg/mL, a 37°C. Isso ocorre porque o cetoprofeno é um ácido fraco e sua solubilidade aumenta conforme aumenta os valores de pH. No pH intestinal é completamente ionizado, sendo altamente solúvel (SHOHIN et al., 2012). O cetoprofeno é classificado como classe II pelo BCS (YAZDANIAN, 2004). Na presença de luminosidade, sofre degradação, mas é resistente ao calor, oxidação ou exposição em meio ácido ou básico (OLIVEIRA; NASCIMENTO; LIMA, 2011). Seu peso molecular é de 254,26 g/mol, apresenta a estrutura química ilustrada na Figura 10.

**Figura 10** - Estrutura química do cetoprofeno



#### 4.2 MECANISMO DE AÇÃO

O cetoprofeno é um analgésico não esteroidal (AINE) com efeito antiinflamatório e antitérmico usado no tratamento de artrite reumatóide, osteoartrite, dismenorria e para aliviar dores moderadas. Assim como outros AINEs, o cetoprofeno atua inibindo as ciclooxigenases, COX-1 e COX-2, obtendo maior efeito sobre a COX-1 (SHOHIN et al., 2012). Apresenta diversos efeitos colaterais porém o mais comum e responsável pelos pacientes abandonarem o tratamento são os sintomas gastrointestinais devido a inibição da COX-1.

### 4.3 FARMACOCINÉTICA

O cetoprofeno é rapidamente absorvido no trato gastrointestinal atingindo uma concentração plasmática máxima em cerca 1 a 2 h. Quando administrado com alimento a concentração plasmática demora mais para ser atingida. Cerca de 99% é ligado à proteína plasmática (principalmente a albumina) e sua meia vida plasmática de eliminação é de aproximadamente 2 a 4 h. Apresenta volume de distribuição 7 a 14 L. A biotransformação do cetoprofeno ocorre através da hidroxilação e, predominantemente, através da conjugação com o ácido glicurônico. Menos de 1% da dose administrada é encontrada de forma inalterada na urina, enquanto o derivado glicuroconjugado representa aproximadamente 65% a 75%. A excreção de cetoprofeno é essencialmente urinária. 50% da dose administrada é eliminada na urina dentro de 6 h após a administração do medicamento (SHOHIN et al., 2012).

Seu tempo de meia vida curto somado a uma possível irritação gástrica resultante da inibição da COX-1, faz do cetoprofeno um fármaco promissor para sistemas de liberação controlada. Com essa estratégia, haveria uma liberação controlada do fármaco aumentando o tempo de ação farmacológica, diminuindo o número de ingestão de comprimidos, além de proteger o estômago das agredções causadas pela inibição da COX-1 (CARUSO et al., 1982; HASSAN; ESHRA; NADA, 1995).

### 5 GLICLAZIDA

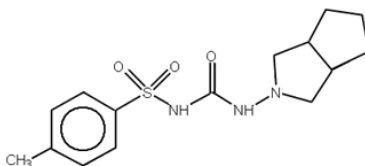
A gliclazida, conhecida quimicamente pelo nome de 1-[4-metilbenzeno) sulfonil]-3-octahidrociclo penta pirrol-2-ureia, é uma sulfonilureia de segunda geração introduzida no mercado farmacêutico no final dos anos 70. É usada no tratamento de diabetes não insulino dependente que é capaz de estimular as células  $\beta$  pancreáticas a secretarem insulina além de reduzir os níveis de glicose sanguíneos. Pode apresentar efeitos hipoglicemiantes por até 24 h após administração o que faz necessário sua ingestão com alimentos para evitar possíveis riscos de hipoglicemia. Sua indicação clínica é feita quando a metformina está contraindicada ou não é tolerada e o paciente não deve estar com sobrepeso visto que um dos principais efeitos adversos do uso da gliclazida é o ganho de peso (SIMO; HERNANDEZ, 2002; SARKAR, et al., 2011).

No Brasil, é possível encontrá-la comercialmente na forma farmacêutica de comprimido de liberação imediata na dose de 80 mg (Diamicon®, Laboratório Servier e Glicaron®, Laboratório Cifarma). Comprimidos de liberação modificada são comercializados na dose de 30 mg, sendo a formulação referência Diamicon MR® (Servier). Outras formulações genéricas e similares também são comercializadas (Azukon MR®, Torrent) (VADE-MÉCUM, 2012; BRASIL, 2015 a).

## 5.1 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), a gliclazida é praticamente insolúvel em água, facilmente solúvel em cloreto de metileno, ligeiramente solúvel em acetona e pouco solúvel em etanol. Apresenta um pKa de 5,8 e é classificada como classe II pelo BCS (JONDALE; BRISE; PORE, 2012; VARSHOSAZ; TAVAKOLI; ENTESHARY, 2013). Possui peso molecular de 323,41 g/mol e estrutura química está ilustrada na Figura 11.

**Figura 11** - Estrutura química da gliclazida



## 5.2 MECANISMO DE AÇÃO

A gliclazida é capaz de estimular as células  $\beta$  a secretar mais insulina pelo pâncreas, isso ocorre possivelmente pela ligação do fármaco aos receptores de sulfonilureias nas células  $\beta$  pancreáticas resultando numa diminuição do fluxo de potássio e provocando a despolarização da célula. Com isso, ocorre abertura dos canais de cálcio resultando em ativação da calmodulina e que por sua vez leva a exocitose da insulina contida em grânulos secretores. Paralelamente, há também uma redução na produção de glicose hepática e melhoria na depuração de glicose e glicogênio do músculo esquelético (HOICH; NG, 1986; SARKAR et al., 2011).

Apresenta poucos efeitos colaterais destacando-se perturbações gastrointestinais como náuseas, vômitos, diarreia e constipação. As reações de hipersensibilidade podem ocorrer geralmente nas primeiras 6

a 8 semanas e consistem de reações alérgicas na pele que progridem raramente para eritema multiformes e dermatite esfoliativa além de febre e icterícia (SARKAR, et al., 2011).

### 5.3 FARMACOCINÉTICA

Possui um tempo de meia-vida intermediário de cerca de 11 h. É extensivamente metabolizada pelo fígado, seus metabolitos são excretados na urina (60-70%) e nas fezes (10-20%). Uma dose oral única de 40 a 120 mg apresenta uma  $C_{\text{máx}}$  de 2,2 a 8  $\mu\text{g/mL}$  dentro de 2 a 8 h e sua concentração plasmática é estabilizada após 2 dias de administração. Seu pico plasmático ocorre 4 a 6 h após ingestão oral. Apresenta um baixo volume de distribuição (13 a 24 L) devido à sua alta afinidade pelas proteínas (85 a 97%) (SARKAR, et al., 2011).



## **CAPÍTULO II**

### **COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE CLORIDRATO DE METFORMINA EMPREGANDO APARATOS 2 E 3**

---

# 1 INTRODUÇÃO

O cloridrato de metformina é um agente hipoglicemiante de uso oral, frequentemente indicado para o tratamento da Diabetes mellitus do tipo 2. Pertence ao grupo das biguanidinas, apresenta baixa toxicidade e é um dos fármaco mais prescritos mundialmente (BAILEY, 1993; GOODARZI; BRYER-ASH, 2005).

Classificado como classe III pelo sistema de classificação biofarmacêutica, o cloridrato de metformina apresenta uma elevada solubilidade, porém uma baixa permeabilidade. Por se tratar de uma base forte com pKa de 11,5, menos de 0,01% do fármaco apresenta-se como espécie ionizada no sangue (GRAHAM et al., 2011).

Baseado na importância da equivalência entre formulações contendo o mesmo fármaco, faz-se necessário considerar que o perfil de dissolução dessas formulações deve apresentar-se dentro dos critérios dos compêndios oficiais. O ensaio de dissolução é uma das ferramentas mais adequadas para se verificar o desempenho de um medicamento, principalmente em formas farmacêuticas sólidas, que frequentemente podem apresentar problemas relacionados à biodisponibilidade (GONJARI; KARMARKAR; HOSMANI, 2009).

O cloridrato de metformina é um fármaco cuja metodologia de análise de controle de qualidade encontra-se disponível na Farmacopeia Brasileira (2010), porém o ensaio para dissolução de comprimidos de liberação prolongada encontra-se descrito apenas na Farmacopeia Americana (USP, 2011).

O ensaio de dissolução só é significativo se mesmo após a repetição do ensaio os resultados apresentem-se iguais. Para obter-se a reprodutibilidade necessária, faz-se necessário conhecer, controlar e padronizar todas as variáveis que possa afetar o ensaio (MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013) e dessa maneira, o ensaio proposto em compêndios oficiais deve assegurar ao técnico uma análise mais simples, rápida e de baixo custo.

O objetivo deste capítulo foi comparar o perfil de dissolução dos comprimidos de liberação modificada Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg, obtidos sob diversas condições de meio tampão fosfato e sob duas distintas metodologias: aparato 2 e aparato 3. E, assim, avaliar o impacto das condições de ensaios nos perfis de dissolução dos comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 MATERIAIS**

O fármaco cloridrato de metformina foi obtido da Embrafarma sob número de lote 13030446. O medicamento comercial analisado foi o Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg, produzido pela Merck S/A<sup>®</sup> (Rio de Janeiro, Brasil, lote BR61072, validade: 08/16), apresentado sob a forma de comprimidos matriciais de liberação modificada.

A água utilizada foi de característica ultra pura obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos). Os reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico ou grau cromatográfico, bem como os equipamentos utilizados nos ensaios, foram disponibilizados pelo laboratório de Controle de Qualidade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

### **2.2 MÉTODOS**

#### **2.2.1 Testes físicos dos comprimidos**

##### **2.2.1.1 Peso médio**

A avaliação de peso médio foi realizada conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010). Vinte unidades de comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> foram pesados individualmente em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e o peso médio foi determinado a partir da média das medidas  $\pm$  desvio padrão.

##### **2.2.1.2 Dureza**

Determinou-se a dureza conforme preconizado na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010) em 10 unidades de comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup>. Os comprimidos foram submetidos, individualmente, à ação de durômetro (Nova Ética, 298-AT), sendo medida a força necessária para esmagá-los. Os valores foram avaliados quanto à sua média e desvio padrão.

##### **2.2.1.3 Friabilidade**

O teste de friabilidade foi realizado de acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010). Para tanto, 10 comprimidos de Glifage

XR<sup>®</sup> foram inicialmente pesados em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e submetidos à ação de friabilômetro (Nova Ética, 300) a 25 rotações por min durante 4 min. Após o ensaio, os resíduos foram removidos com auxílio de pinça e as amostras foram novamente pesadas. A diferença entre o peso inicial e o final dos comprimidos representou a friabilidade em função da percentagem de pó perdido (F. BRAS., 2010).

#### 2.2.1.4 Doseamento

O teor dos comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg foi analisado conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (2010). Vinte comprimidos foram pesados em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e triturados. A quantidade de pó equivalente a 100 mg de cloridrato de metformina foi pesada e transferida para balão volumétrico de 100 mL e adicionado 70 mL de água. A suspensão foi agitada por 15 minutos e após completado o volume no balão com o mesmo solvente e filtrado. Uma alíquota de 10 mL do filtrado foi retirada para balão volumétrico de 100 mL e completado o volume com água. Diluições sucessivas até a concentração de 0,001% (p/v) foram feitas usando a água como solvente e a absorbância foi determinada em espectrofotômetro UV/vis em 232 nm. O teor médio foi expresso em porcentagem  $\pm$  DP.

#### 2.2.2 Estudos de solubilidade

A solubilidade de equilíbrio do cloridrato de metformina em soluções tampão fosfato com diferentes valores de pH (pH 4,5; 5,5; 6,0; 6,4; 6,8 e 7,0) foi verificada em triplicata. Para tanto, um excesso de fármaco foi adicionado a 25 mL de cada solução tampão e mantido sob agitação em béquer, por 24 horas, em temperatura ambiente. As alíquotas foram coletadas em 6, 12 e 24 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas por espectroscopia na região do UV, utilizando as condições descritas na secção 2.2.4.

#### 2.2.3 Ensaios de dissolução

Visando verificar o impacto de diferentes aparatos e diferentes valores de pH do meio de dissolução, os comprimidos comerciais Glifage XR<sup>®</sup> foram submetidos a diferentes ensaios de dissolução. O objetivo do ensaio foi comparar o perfil obtido utilizando a

metodotologia descrita na USP (2011) com os perfis obtidos quando a amostra era submetida a diferentes valores de pH do meio.

#### 2.2.3.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 – pá

O ensaio de dissolução utilizando o aparato 2 (pá) foi realizado empregando-se o equipamento de dissolução Varian (VK 7000) sob as condições descritas na Farmacopeia Americana (USP, 2011). Utilizou-se 1000 mL de tampão fosfato 50 mM, pH 6,8, temperatura  $37 \pm 0,5$  °C e agitação de 100 rpm.

Além do meio descrito no ensaio farmacopeico, foram realizados ensaios mantendo-se as mesmas condições experimentais de agitação e volume do meio, utilizando, entretanto, tampão fosfato 50 mM com diferentes valores de pHs (4,5 e 6,4).

Em ambas situações as soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). O teste foi realizado por um período de 24 h. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas por espectrofotometria no UV/vis, para determinação do percentual de fármaco liberado. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

#### 2.2.3.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis

O perfil de liberação dos comprimidos de ação prolongada de cloridrato de metformina foram realizados em equipamento de dissolução Bio-Dis (Erweka, RRT10). Os ensaios foram realizados em triplicata, sob duas situações distintas; em um primeiro ensaio, utilizou-se um gradiente de pH visando mimetizar as condições fisiológicas do trato gastrointestinal em estado alimentado (WEN; PARK, 2010) (Tabela 7). As soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). Visando avaliar a influência da hidrodinâmica do aparato 3 em relação ao 2, um segundo ensaio foi realizado mantendo-se as amostras por 24 h em solução tampão fosfato com apenas um valor de pH (6,8).

**Tabela 7 - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis)**

Cuba	pH		Tempo (min )
	Ensaio 1	Ensaio 2	
1	4,5	6,8	60
2	5,5	6,8	30
3	6,0	6,8	120
4	7,0	6,8	90
5	6,4	6,8	300
6	6,8	6,8	840

As cubas foram preenchidas com 250 mL de tampão fosfato 50 mM no seu respectivo valor de pH, à  $37 \pm 0,5$  °C, com velocidade de 10 dip/min e malha de 420 *mesh*. Alíquotas de 5 mL de cada cuba foram coletadas nos tempos de 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h e analisadas por espectroscopia na região do UV.

#### **2.2.4 Metodologia de quantificação do cloridrato de metformina por espectrofotometria na região UV**

O método empregado nos estudos de solubilidade e dissolução foi avaliado em termos de especificidade, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

##### **2.2.4.1 Especificidade**

A fim de verificar a interferência dos excipientes na quantificação do cloridrato de metformina, realizou-se varredura na faixa espectral compreendida entre 200 a 400 nm de uma solução contendo os excipientes mencionados na bula. A faixa de concentração destes foi determinada com base em literatura específica (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Para tal, uma suspensão aquosa contendo estearato de magnésio, HPMC e croscarmelose foi preparada. A amostra foi filtrada em papel filtro quantitativo e analisada.

##### **2.2.4.2 Linearidade**

A partir de solução estoque de cloridrato de metformina, preparada na concentração de 1 mg/mL em água, foram realizadas diluições para se obter as concentrações de 1, 2, 6, 8 e 10 µg/mL. As soluções foram analisadas em 232 nm. Com os valores de absorvâncias obtidos em função da concentração do cloridrato de metformina foram

calculados os coeficientes de correlação e a equação da reta de calibração  $y = ax + b$ , em que  $y$  que corresponde à absorvância e  $x$  à concentração em  $\mu\text{g/mL}$ . As curvas foram preparadas em triplicata.

#### 2.2.4.3 LD e LQ

Os LD e o LQ do cloridrato de metformina foram determinados a partir do desvio padrão da resposta ( $\sigma$ ) e do coeficiente angular ( $S$ ) (Equações 5 e 6), obtidos através da equação da reta das curvas de calibração analisadas.

$$LD = (3,3 \sigma)/S \quad \text{Equação 5}$$

$$LQ = (10 \sigma)/S \quad \text{Equação 6}$$

### 2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução

A eficiência de dissolução (ED) e o fator de semelhança ( $f_2$ ) foram empregados para comparar os perfis de dissolução das amostras analisadas.

#### 2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED)

A ED dos perfis de dissolução de comprimidos de ação prolongada de cloridrato de metformina foi estabelecida calculando-se a área sob a curva de dissolução (método dos trapezóides), proposto inicialmente por Khan e Rhodes (KHAN; RHODES, 1975). O valor de ED foi determinado pela razão entre a área sob a curva de dissolução compreendida entre 0 e 24 h ( $ASC_{0-24 \text{ horas}}$ ) e a área total do retângulo ( $ASC_{\text{TOTAL}}$ ), definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (24 h), conforme Equação 7. As áreas sob a curva foram determinadas através do *software* DD Solver®. Os valores de ED foram comparados através de teste *T de student*, com intervalo de confiança de 95% e empregando-se o *software* DD Solver®.

$$ED(\%) = \frac{ASC_{0-24 \text{ horas}}}{ASC_{\text{TOTAL}}} \times 100 \quad \text{Equação 7}$$

### 2.2.5.2 Fator de semelhança (f2)

O f2, proposto por Moore e Flanner em 1996, é uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de dois perfis de liberação, correspondentes a um produto de referência e um teste, e é representado pela Equação 8 (COSTA; LOBO, 2001; MOORE; FLANNER, 1996).

$$f2 = 50 \times \log \left\{ \left[ 1 + \left( \frac{1}{n} \right) \sum_{t=1}^n (R_t - T_t)^2 \right]^{-0,5} \times 100 \right\} \quad \text{Equação 8}$$

onde  $R_t$  e  $T_t$  são as porcentagens dissolvidas acumuladas em cada tempo, correspondentes ao produto de referência e ao teste, respectivamente, e  $n$  é o número de tempos de coleta. O fator de semelhança f2 também foi calculada pelo *software* DD Solver®, considerando valores acima de 50 como semelhantes e abaixo sem semelhança entre os perfis.

### 2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução

Para verificar-se o mecanismo cinético envolvido na liberação do cloridrato de metformina a partir dos comprimidos, os modelos matemáticos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas foram aplicados utilizando-se o *software* DD Solver®. A partir dos coeficientes de correlação ( $r$ ) obtidos, o modelo com o valor mais próximo a 1 foi selecionado como o mais adequado.

A partir do modelo escolhido, determinou-se também a velocidade de dissolução ( $k$ ), o tempo necessário para liberar 50% ( $t_{50\%}$ ) e 90% ( $t_{90\%}$ ) de cloridrato de metformina.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 TESTES FÍSICOS

Os testes físicos são os primeiros dados que podem ser obtidos para comprimidos, de forma rápida e simples. Alguns ensaios podem ser decisivos até para a reprovação de um produto, tornando seus valores de grande importância para uma avaliação de controle de qualidade (ANSEL; POPOVICH; ALLEN JR, 2010).



Todos os comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> apresentaram-se íntegros, com a coloração branca e homogênea e sem imperfeições. A Tabela 8 apresenta os valores de peso médio, dureza, friabilidade e teor para os comprimidos analisados:

**Tabela 8** - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup>

Teste aplicado	Resultado obtido	Valores de referência
Peso médio (mg) $\pm$ DP	1018 $\pm$ 15,75	5% para mais ou para menos
Dureza (kgf) $\pm$ DP	32,39 $\pm$ 0,86	Sem especificação
Friabilidade (%)	0,14	Máximo 1,5%
Teor (%) $\pm$ DP	98,81 $\pm$ 2,67	Mínimo 95% e máximo 105%

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), para comprimidos com peso médio acima de 250 mg, é aceitável um limite de variação de 5% para mais ou para menos e apenas 2 unidades podem estar fora desse limite. No caso, todos os comprimidos analisados estavam dentro do limite preconizado.

O teste de dureza é um teste informativo segundo Farmacopeia Brasileira (2010) e não há especificações. Os comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> necessitam de uma força superior a 30 kgf.

Para o teste de friabilidade de comprimidos com peso médio superior a 650 mg, como é o caso dos comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup>, é descrito na Farmacopeia Brasileira (2010) que o teste seja feito com 10 unidades. Nenhum comprimido deve apresentar-se lascado, quebrado ou com fissura após o ensaio e a perda de massa deve ser de, no máximo, 1,5%. A perda de apenas 0,14% de massa encontra-se dentro do limite estabelecido.

A Farmacopeia Brasileira preconiza que os comprimidos de cloridrato de metformina contenham no mínimo 95% e no máximo 105% da quantidade de fármaco declarada no rótulo do produto. Os comprimidos analisados encontram-se em acordo com a especificação, por apresentarem teor de 98,81%.

### 3.2 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

Segundo a Farmacopeia Americana (2011), condição *sink* é o volume de meio no mínimo 3 vezes maior do que aquele necessário para se obter uma solução saturada do fármaco (USP, 2011). Os resultados do estudo de solubilidade bem como o volume necessário para obter a condição *sink* estão descritos na Tabela 9:

**Tabela 9** – Solubilidade de equilíbrio do cloridrato de metformina em diversos meios de dissolução após 24 horas

Meio de dissolução	Solubilidade de equilíbrio (mg/mL) $\pm$ DP
Tampão fosfato pH 4,5	328 $\pm$ 0,34
Tampão fosfato pH 5,5	305 $\pm$ 0,76
Tampão fosfato pH 6,0	347 $\pm$ 0,48
Tampão fosfato pH 6,4	339 $\pm$ 1,72
Tampão fosfato pH 6,8	355 $\pm$ 1,10
Tampão fosfato pH 7,0	352 $\pm$ 0,46

O resultado mostra que o fármaco em questão é extremamente solúvel e não sofre influência do pH na sua solubilidade, conforme descrito em compêndios oficiais (F. BRAS., 2010; USP, 2011) bem como em outras fontes da literatura (DESAI et al., 2014). Esses resultados já eram esperados, uma vez que este fármaco é altamente solúvel (classe III, de acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica), além de possuir um valor de pKa de 11,5, o que reflete nos dados obtidos, uma vez que o fármaco não sofre ionização nos valores de pH avaliados (GRAHAM et al., 2011).

Com esses dados pode-se concluir, também, que a condição *sink* pode ser mantida facilmente para qualquer condição de pH, já que é necessário um volume de cerca de 5 mL para mantê-la.

### 3.3 PERFIS DE LIBERAÇÃO DO CLORIDRATO DE METFORMINA A PARTIR DE COMPRIMIDOS DE GLIFAGE XR®

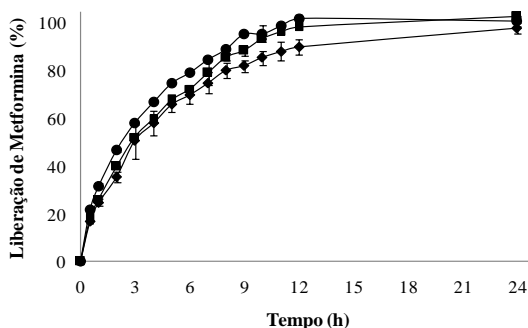
#### 3.3.1 Aparato 2 - pá

A Farmacopeia Americana preconiza que o ensaio de dissolução para comprimidos de ação prolongada contendo o fármaco cloridrato de metformina seja realizada nas seguintes condições: aparato 2; 100 rpm; 1000 mL de tampão fosfato 50 mM pH 6,8 como

meio (USP, 2011). Todos esses parâmetros foram assegurados para a realização desse ensaio.

Tratando-se de comprimidos matriciais de liberação prolongada e com intuito de garantir que os diferentes valores de pH do TGI não influenciem nos perfis de liberação, avaliou-se, também *in vitro*, a dissolução dos comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> em pH 6,4 e 4,5. Esses valores foram selecionados baseados na Tabela 6. A Figura 12 mostra os perfis de dissolução obtidos em aparato 2:

**Figura 12** - Perfis de dissolução do cloridrato de metformina (Glifage XR<sup>®</sup>) em aparato 2 e sob diversas condições de meio, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8



Os perfis obtidos são característicos de liberação prolongada, pois são capazes de liberar gradualmente o fármaco ao longo do tempo. Os respectivos valores do percentual de liberação do cloridrato de metformina em 1, 3, 10 e 24 h, bem como o valor da ED, são mostrados na Tabela 10. Como inconveniente, durante o ensaio os comprimidos fixaram-se no fundo das cubas situação essa muitas vezes esperada para comprimidos de liberação prolongada devido às características dos polímeros presentes na matriz em intumescer com a presença da água. Porém não é desejável visto que pode influenciar no perfil de liberação do fármaco (WEN; PARK, 2010)

**Tabela 10** - Porcentagem de dissolução em 1, 3, 10, 24 h e ED dos perfis obtidos para de comprimidos Glifage XR®

Meio	Liberação em 1 h (% ± DP)	Liberação em 3 h (% ± DP)	Liberação em 10 h (% ± DP)	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
pH 4,5	24,80 ± 1,46	50,63 ± 7,34	85,42 ± 2,95	98,00 ± 2,25	78,80 ± 2,00
pH 6,4	26,28 ± 1,23	52,38 ± 1,32	93,37 ± 0,35	102,74 ± 0,40	84,22 ± 0,30
pH 6,8	31,59 ± 0,92	57,90 ± 0,55	95,67 ± 3,59	100,69 ± 1,88	87,04 ± 1,27

A Farmacopeia Americana preconiza que comprimidos de cloridrato de metformina 500 mg de ação prolongada devem liberar 20 a 40% de fármaco na primeira hora; 45 a 65% na terceira hora e acima de 85% na décima hora de análise em tampão fosfato pH 6,8 (USP, 2011). Os comprimidos de Glifage XR® atendem às especificações em todos os meios analisados.

Embora a análise da ED por teste *t-student*, tenha demonstrado que o perfil obtido no meio de dissolução pH 4,5 era diferente do meio em pH 6,8, a análise por f2 mostrou que todos os perfis de dissolução foram semelhantes entre si, conforme mostra a Tabela 11.

**Tabela 11** - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos Glifage XR®

Comparação	Valores de f2	Diferentes?
pH 4,5 x pH 6,4	65,2	Não
pH 4,5 x pH 6,8	52,3	Não
pH 6,4 x pH 6,8	64,8	Não

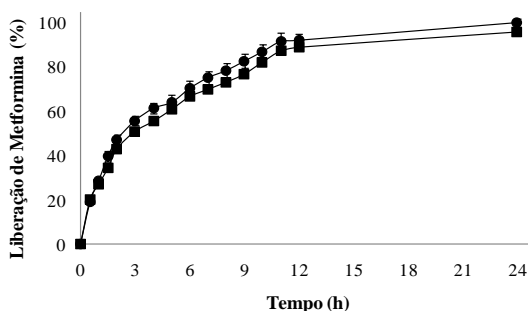
Em estudo proposto por Desai e colaboradores (2014), os comprimidos de cloridrato de metformina, apesar de não dependentes de pH para solubilizarem-se, apresentaram uma velocidade de dissolução mais lenta em valores de pHs mais ácidos (1,2 e 4,5) quando comparados ao perfil de dissolução obtidos em pH 6,8. No presente estudo foi possível observar que o perfil de dissolução em pH 4,5 também foi um pouco mais lento quando comparado aos pHs 6,4 e 6,8, mas essa diferença foi pouco expressiva. A hipótese proposta pelos autores é que em um pH ácido ocorre uma protonação adicional ao cloridrato de metformina resultando numa maior solvatação e raio hidrodinâmico levando, assim, à uma difusão e dissolução mais lenta.

Essa característica pode ser verificada com mais intensidade quando há presença de excipientes de caráter aniônico, como o lauril sulfato de sódio. O cloridrato de metformina por ser catiônico, liga-se ao ânion formando um sal com menor solubilidade em pH ácido e maior em pH básico (DESAI, et al, 2014). No caso do Glifage XR<sup>®</sup>, excipientes como lauril sulfato de sódio não fazem parte de sua composição e, por isso, a diferença de velocidade de dissolução em diferentes pHs não pôde ser observada com intensidade.

### 3.3.2 Aparato 3 - Bio Dis

O aparato 3 (Bio-dis) é o modelo de equipamento desenvolvido para simular as condições endógenas do TGI e avaliar o perfil de dissolução de comprimidos de liberação prolongada (DRESSMAN; KRAMER, 2009). Os perfis de dissolução do cloridrato de metformina obtidos em aparato 3 podem ser observados na Figura 13.

**Figura 13** - Perfil de liberação do Glifage XR em aparato 3, sendo: (●) Gradiente, e (■) pH 6,8



Não houve influência do pH do meio no perfil de liberação do cloridrato de metformina a partir dos comprimidos. Quanto à porcentagem de fármaco liberado em função do tempo, os valores obtidos condizem com o preconizado na Farmacopeia Americana, exceto para o ensaio em tampão fosfato pH 6,8, que deveria ter liberado mais de 85% na décima hora de ensaio (Tabela 12).

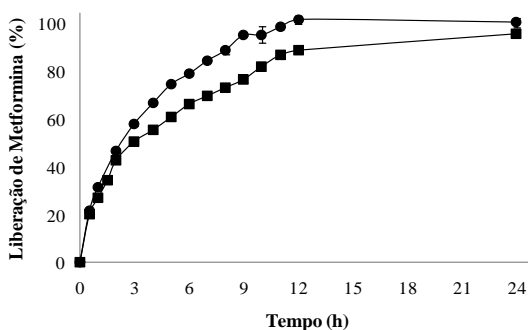
**Tabela 12** - Porcentagem de dissolução em 1, 3, 10, 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup>

Meio	Liberação em 1 h (% $\pm$ DP)	Liberação em 3 h (% $\pm$ DP)	Liberação em 10 h (% $\pm$ DP)	Liberação em 24 h (% $\pm$ DP)	ED (% $\pm$ DP)
Com grad.	28,83 $\pm$ 1,22	55,73 $\pm$ 2,16	87,04 $\pm$ 3,02	99,97 $\pm$ 1,89	80,96 $\pm$ 2,51
pH 6,8	27,20 $\pm$ 0,73	50,61 $\pm$ 0,61	82,09 $\pm$ 1,43	96,01 $\pm$ 1,40	77,05 $\pm$ 0,95

Com um valor de  $f_2$  de 67,8 pode-se dizer que os perfis de dissolução em aparato 3 com gradiente de pH e em pH 6,8 são semelhantes entre si. Esses dados são confirmados estatisticamente pelo teste *t-student* a partir dos valores de ED.

Para se avaliar a influência da hidrodinâmica inerente ao aparato de dissolução foram comparados os perfis de dissolução obtidos nos aparatos 2 e 3. A Figura 14 mostra esta comparação em tampão fosfato pH 6,8

**Figura 14** - Perfil de liberação do Glifage XR<sup>®</sup> em tampão fosfato pH 6,8, sendo (●) Aparato 2 e (■) Aparato 3



O valor de  $f_2$  de 47,3 mostra que os perfis são distintos entre si. Segundo Kostewicz e colaboradores (2014), no aparato 3, a agitação de 10 dip/min corresponde a 100 rpm de agitação no aparato 2. Mesmo assim, houve uma liberação menor de fármaco no aparato 3 e diferença entre os perfis, o que significa que os comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> sofrem a interferência da hidrodinâmica proporcionada pelos diferentes aparatos de dissolução.

Durante ensaio em aparato 3 não foi observado adesão do comprimido em partes do equipamento conforme foi observado no aparato 2. Essa constatação mostra uma vantagem do uso do aparato 3 em relação ao aparato 2.

### 3.3.3 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução *in vitro*

Através do coeficiente de correlação ( $r$ ) mais próximo de 1 é possível determinar qual modelo cinético representa o perfil de dissolução dos comprimidos de Glifage XR®. Os valores obtidos nos diferentes modelos são mostrados na Tabela 13.

**Tabela 13 - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Glifage XR®**

	<b>Aparato II 100rpm pH 6,8</b>	<b>Aparato III pH 6,8</b>
	<b><math>r</math></b>	<b><math>r</math></b>
Ordem Zero	0,9394	0,9466
Primeira ordem	0,9951	0,9881
Higuchi	0,9952	0,9967
Korsmeyer Peppas	0,9999	0,9969
Hixson-Crowell	0,9929	0,9805

Embora os valores obtidos demonstrem que os perfis analisados seguem o modelo cinético de Korsmeyer Peppas, os valores de  $t_{50\%}$  e  $t_{90\%}$  (2,56 h e 8,29 h, respectivamente), não condizem com os resultados experimentais. Dessa forma, os modelos de Higuchi são os mais adequados para os perfis de Glifage XR®.

## 3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CLORIDRATO DE METFORMINA POR ESPECTROSCOPIA-UV

Os dados abaixo indicam que o método analítico empregado para quantificar o fármaco nos estudos de solubilidade e de dissolução pode ser considerado linear e específico uma vez que os parâmetros de linearidade e especificidade foram alcançados.

### 3.4.1 Linearidade, LD e LQ

A linearidade foi obtida através da elaboração da curva analítica. Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo de aceitação do coeficiente de correlação é de 0,99 (BRASIL, 2003). A curva mostrou

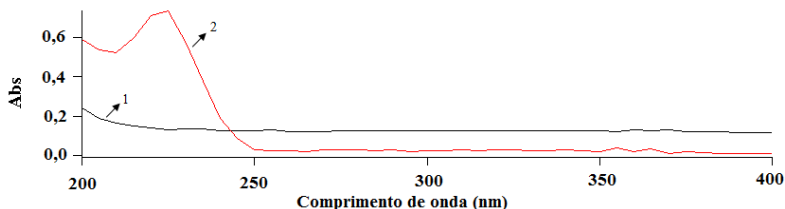
que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do fármaco na faixa de 1 a 10 µg/mL, com equação da reta  $y=0,079x-0,004$  e coeficiente de correlação linear de 0,999.

A sensibilidade do método foi avaliada através da determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) apresentando os valores de 0,10 µg/mL e 0,29 µg/mL, respectivamente. Como ambas as concentrações obtidas correspondem a valores menores que o primeiro ponto da curva de calibração, pode-se concluir que o método é sensível para a aplicação proposta.

### 3.4.2 Especificidade

De acordo com os espectros obtidos (Figura 15), pode-se concluir que o método foi específico, não havendo interferências dos excipientes no comprimento de onda selecionado, 232 nm.

**Figura 15** - Espectro UV do cloridrato de metformina na presença de diversos excipientes, sendo 1: excipientes e 2: cloridrato de metformina



## 4. CONCLUSÃO

Uma das principais vantagens do uso do Aparato 3 é poder submeter a amostra a um gradiente de pH. Porém essa variação não se mostra relevante para os comprimidos de cloridrato de metformina pois o mesmo mantém a mesma solubilidade indiferente do valor de pH. Mas mesmo assim, a aplicação do aparato 3 mostrou-se vantajosa pois impediu que os comprimidos se aderissem ao fundo da cuba, conforme foi observado em aparato 2 e assim minimizaria possíveis interferências nos resultados. Por isso, devido a alta solubilidade do cloridrato de metformina e consequente facilidade de obter a condição *sink* com pequena quantidade de meio sugere-se o ensaio em aparato 3 com o uso de apenas 1 cuba, sem o transporte da formulação.



### **CAPÍTULO III**

#### **COMPARAÇÃO DOS PERFIS DE DISSOLUÇÃO DE COMPRIMIDOS DE CETOPROFENO EMPREGANDO APARATOS 2 E 3**

---

# 1 INTRODUÇÃO

O cetoprofeno é um anti-inflamatório não esteroidal (AINE) amplamente utilizado pela população mundial devido à sua ação analgésica, antipirética e anti-inflamatória (ONG; KAMARUDDIN; BHATIA, 2005). Este fármaco pode ser encontrado comercialmente nas seguintes formas: solução injetável, gel, solução oral, cápsulas e comprimidos, revestidos ou não. Os comprimidos, por sua vez, encontram-se disponíveis sob 3 formas, de acordo com seu sistema de liberação, sendo: 1) liberação imediata; 2) liberação entérica ou 3) liberação prolongada (OLIVEIRA; NASCIMENTO; LIMA, 2011).

A administração do cetoprofeno geralmente é indicada junto com alimentos para minimizar possíveis efeitos gástricos. O seu tempo de meia vida curto somado a uma possível irritação gástrica resultante da inibição da COX-1, faz do cetoprofeno um fármaco promissor para sistemas de liberação modificada. Com essa estratégia, haveria uma liberação controlada do fármaco aumentando o tempo de ação farmacológica, diminuindo o número de ingestão de comprimidos, além de proteger o estômago das agressões causadas pela inibição da COX-1 (CARUSO et al., 1982; HASSAN; ESHRA; NADA, 1995).

O fármaco é um ácido fraco com três valores de  $pK_a$  4,39, 4,45 e 4,76 a 25°C. Isto justifica seu comportamento de solubilidade dependente de pH, pois conforme o pH aumenta, maior será sua taxa de ionização e, conseqüentemente, maior sua solubilidade (SHOHIN et al., 2012). Em relação às características de solubilidade e permeabilidade, o cetoprofeno é classificado como classe II pelo BCS, ou seja, apresenta baixa solubilidade e alta permeabilidade (YAZDANIAN, 2004).

No que se refere às metodologias analíticas descritas em compêndios oficiais, a Farmacopeia Brasileira apresenta monografia apenas para a matéria-prima do cetoprofeno, no entanto, na Farmacopeia Americana há monografia para comprimidos de liberação prolongada entre outras formas farmacêuticas (F. BRAS., 2010; USP, 2011).

O ensaio de dissolução é relevante para verificar a conformidade do produto e garantir eficácia e segurança ao paciente. Todo ensaio proposto deve apresentar todas as variáveis que podem afetar o ensaio devem ser bem conhecidas, controladas e padronizadas (MACHERAS; KARALIS; VALSAMI, 2013). Dessa maneira, o ensaio proposto em compêndios oficiais deve assegurar ao técnico uma análise mais simples, rápida e de baixo custo.

Esse capítulo teve como objetivo comparar o perfil de dissolução dos comprimidos de liberação prolongada de Profenid Retard® 200 mg obtido com a metodologia proposta em compêndio oficial com o perfil obtido utilizando meios de dissolução com outros valores de pH. Realizou-se, também, perfil de dissolução em diferentes aparatos. Buscou-se, com os estudos, obter parâmetros para avaliar o impacto das condições de ensaios nos perfis de dissolução dos comprimidos de Profenid Retard® 200 mg.

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 MATERIAIS**

O fármaco cetoprofeno foi obtido da Gemin, sob número de lote KPO- 1410039, validade 10/2017. O medicamento de ação prolongada analisado foi o Profenid Retard® 200 mg, produzido pela Sanofi Aventis Farmacêutica® (São Paulo, Brasil, lote 515216, validade: 08/2016), comercializado sob forma de comprimidos matriciais com revestimento entérico.

Utilizou-se água ultra-pura obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos). Os reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico ou grau cromatográfico, bem como os equipamentos utilizados nos ensaios foram disponibilizados pelo laboratório de Controle de Qualidade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

### **2.2 MÉTODOS**

#### **2.2.1 Testes físicos dos comprimidos**

##### **2.2.1.1 Peso médio**

A avaliação de peso médio foi realizada conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010). Vinte unidades de comprimidos de Profenid Retard® foram pesados individualmente em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e o peso médio foi determinado a partir da média das medidas  $\pm$  desvio padrão.

##### **2.2.1.2 Dureza**

Determinou-se a dureza conforme preconizado na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010) em 10 unidades de comprimidos de Profenid Retard®. Os comprimidos foram submetidos, individualmente, à ação de durômetro (Nova Ética, 298-AT), sendo medida a força necessária para esmagá-los. Os valores foram avaliados quanto à média e desvio padrão.

### 2.2.1.3 Friabilidade

O teste de friabilidade foi realizado de acordo com a Farmacopeia Brasileira, porém apenas como controle de qualidade visto que os comprimidos são revestidos, não sendo então recomendado esse tipo de análise. Para tanto, 20 comprimidos de Profenid Retard® foram inicialmente pesados em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e submetidos à ação de friabilômetro (Nova Ética, 300), a 25 rotações por min, durante 4 min. Após o ensaio, os resíduos foram removidos com auxílio de pinça e as amostras foram novamente pesadas. A diferença entre o peso inicial e o final dos comprimidos representou a friabilidade em função da percentagem de pó perdido (F. BRAS., 2010).

### 2.2.1.4 Doseamento

Pesou-se 10 comprimidos de Profenid Retard®, triturou-se, e massa equivalente a 200 mg de cetoprofeno foi pesada em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2). Em seguida, a amostra foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de 50 mL de etanol e foi mantida em banho ultrassom por 60 min, para completa solubilização do fármaco. Após, o volume foi completado com o mesmo solvente, para obter-se a concentração de 2 mg/mL. Esta solução foi homogeneizada e filtrada em filtro Millipore 0,45 µm e do filtrado retirou-se alíquota necessária para obter solução com concentração de 10 µg/mL, em água. As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 258 nm, utilizando água como branco, em espectrofotômetro UV/vis (Varian UV). O teor de fármaco foi determinado através de equação da reta ( $y = ax + b$ ) previamente elaborada, conforme descrito no desenvolvimento da metodologia de quantificação (2.2.4). O teor médio foi expresso em porcentagem  $\pm$  desvio padrão.

## 2.2.2 Estudos de solubilidade

A solubilidade de equilíbrio do cetoprofeno em soluções tampão com diferentes valores de pH (pH 4,5; 5,5; 6,0; 6,4; 6,8 e 7,0), bem como em meio biorrelevante pH 6,8, foi verificada em triplicata, utilizando o método por CLAE previamente descrito para o meio biorrelevante e o método UV/vis para os demais meios. Para tanto, um excesso de fármaco foi adicionado a 25 mL de cada solução tampão e mantido sob agitação, em béquer, por 48 h, em temperatura ambiente. As alíquotas foram coletadas em 6, 12, 24 e 48 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas por CLAE ou UV/vis, utilizando as condições descritas no item 2.2.4.

## 2.2.3 Ensaios de dissolução

Visando verificar o impacto de diferentes aparatos e diferentes pHs do meio de dissolução, os comprimidos comerciais Profenid Retard<sup>®</sup> foram submetidos a diferentes ensaios de dissolução. O objetivo do ensaio foi comparar os resultados encontrados com o perfil obtido utilizando as condições de dissolução descritas na USP (2011).

### 2.2.3.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 – pá

O ensaio de dissolução utilizando o aparato 2 (pá) foi realizado empregando-se dissolutor Varian (VK 7000) sob as condições descritas na Farmacopeia Americana (USP, 2011). Utilizou-se como meio o tampão fosfato 50 mM pH 6,8, 1000 mL por cuba, temperatura de  $37 \pm 0,5$  °C e agitação de 50 rpm.

Além do meio descrito no ensaio farmacopeico foram realizados ensaios mantendo-se as mesmas condições experimentais utilizando-se, entretanto, tampão fosfato 50 mM com diferentes valores de pH (4,5 e 6,4). As soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). O teste foi realizado por um período de 24 h. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 0; 5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas por espectrofotometria no UV, para determinação do percentual de fármaco liberado. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.2.3.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis

O perfil de liberação dos comprimidos de ação prolongada de Profenid Retard® foi realizado em dissolutor Bio-Dis (Erweka, RRT10). Os ensaios foram realizados em triplicada, sob duas situações distintas; em um primeiro ensaio, utilizou-se um gradiente de pH visando mimetizar as condições fisiológicas do trato gastrointestinal em estado alimentado (WEN; PARK, 2010) (Tabela 14). As soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). Visando avaliar a influência da hidrodinâmica do aparato 3 em relação ao 2, um segundo ensaio foi realizado mantendo-se as amostras por 24 horas em solução tampão fosfato com apenas um valor de pH (6,8).

**Tabela 14** - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis)

Cuba	pH		Tempo (min )
	Ensaio 1	Ensaio 2	
1	4,5	6,8	60
2	5,5	6,8	30
3	6,0	6,8	120
4	7,0	6,8	90
5	6,4	6,8	300
6	6,8	6,8	840

As cubas foram preenchidas com 250 mL de tampão fosfato 50 mM no seu respectivo valor de pH, a  $37 \pm 0,5$  °C, com velocidade de 10 dip/min e malha de 420 *mesh*. Alíquotas de 5 mL de cada cuba foram coletadas nos tempos de 0,5; 1; 1,5; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h e analisadas por espectrofotometria no UV.

## 2.2.4 Metodologia de quantificação do cetoprofeno

A quantificação do cetoprofeno foi realizada utilizando a espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) ou a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com a necessidade e a seletividade requerida. Para tal, foram avaliados os parâmetros de especificidade, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

### 2.2.4.1 Espectrofotometria na região do UV

Este método foi utilizado para avaliação do teor e nos estudos de solubilidade e de dissolução.

#### 2.2.4.1.1 Especificidade

A fim de verificar a interferência dos excipientes na quantificação de cetoprofeno, realizou-se varredura de uma solução contendo os excipientes mencionados na bula na faixa espectral compreendida entre 200 a 400 nm. A faixa de concentração destes foi determinada com base em compêndios oficiais (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Para tal, uma suspensão aquosa contendo fosfato de cálcio dibásico, estearato de magnésio e dióxido silício foi preparada. A amostra foi filtrada em papel filtro quantitativo e analisada.

#### 2.2.4.1.2 Linearidade

A partir de solução estoque de cetoprofeno, preparada na concentração de 2 mg/mL em etanol, foram realizadas diluições para se obter as concentrações de 1, 4, 6, 8, 10, 12 e 16 µg/mL. As soluções foram analisadas em 258 nm. Com os valores de absorvâncias obtidos em função da concentração do cetoprofeno foram calculados os coeficientes de correlação e a equação da reta de calibração  $y = ax + b$ , em que  $y$  que corresponde à absorvância e  $x$  à concentração em µg/mL. As curvas foram preparadas em triplicata.

#### 2.2.4.1.3 LD e LQ

Os LD e o LQ do cetoprofeno foram determinados a partir do desvio padrão da resposta ( $\sigma$ ) e do coeficiente angular ( $S$ ) (Equações 5 e 6), obtidos através da equação da reta das curvas de calibração analisadas.

#### 2.2.4.2 Metodologia de quantificação do cetoprofeno por CLAE

Para a quantificação do cetoprofeno por CLAE, utilizou-se cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão) e coluna analítica Phenomenex Luna C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) acoplada a uma pré-coluna (C18, 4,0 x 3,0 mm). A fase móvel foi composta por metanol e tampão fosfato 10 mM pH 3,5 (70:30 v/v), eluída isocraticamente em fluxo de 1,0 mL/min. A temperatura da coluna foi de 25°C; o volume de injeção foi de 20 µL empregando comprimento de onda de 258 nm. As amostras coletadas foram filtradas em filtro Millipore® com diâmetro de poro de 0,45 µm. Os dados obtidos foram analisados em *software* CLASS-VP.

Este método foi utilizado na avaliação da dissolução do cetoprofeno em meio biorrelevante.

#### **2.2.4.2.1 Especificidade**

A fim de verificar a interferência do meio biorrelevante na quantificação do cetoprofeno, solução FaSSIF simulando a condição do intestino em jejum foi preparada em pH 6,8 e analisada por CLAE, utilizando as condições descritas anteriormente.

#### **2.2.4.2.2 Linearidade**

A partir de solução estoque de cetoprofeno, preparada na concentração de 1000 µg/mL em etanol, foram realizadas diluições para obter as concentrações de 1, 50, 100, 250 e 500 µg/mL em água. As soluções foram analisadas por CLAE, utilizando as condições descritas anteriormente. Com os valores de áreas obtidas em função da concentração do cetoprofeno foram calculados os coeficientes de correlação e a equação da reta de calibração  $y = ax + b$ , em que  $y$  que corresponde à área e  $x$  à concentração em µg/mL. As curvas foram preparadas em triplicata.

#### **2.2.4.2.3 LD e LQ**

Os LD e LQ do cetoprofeno foram determinados a partir do desvio padrão da resposta ( $\sigma$ ) e do coeficiente angular ( $S$ ) (Equações 5 e 6) obtidos através da equação da reta das curvas de calibração analisadas.

### **2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução**

A eficiência de dissolução (ED) e o fator de semelhança ( $f_2$ ) foram empregados para comparar os perfis de dissolução das amostras analisadas.

#### **2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED)**

A ED dos perfis de dissolução de comprimidos de ação prolongada de cetoprofeno foi estabelecida calculando-se a área sob a curva de dissolução (método dos trapezóides), proposto inicialmente por Khan e Rhodes (KHAN; RHODES, 1975). O valor de ED foi



determinado pela razão entre a área sob a curva de dissolução compreendida entre 0 e 24 h ( $ASC_{0-24 \text{ horas}}$ ) e a área total do retângulo ( $ASC_{TOTAL}$ ), definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (24 h), conforme Equação 7. As áreas sob a curva foram determinadas através do *software* DD Solver<sup>®</sup>. Os valores de ED foram comparados através de teste *t* de *student*, com intervalo de confiança de 95% e empregando-se o *software* DD Solver<sup>®</sup>.

#### 2.2.5.2 Fator de semelhança (f2)

O fator de semelhança f2, proposto por Moore e Flanner, em 1996, é uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de dois perfis de liberação, correspondentes a um produto de referência e um teste, e é representado pela Equação 8 (COSTA; LOBO, 2001; MOORE; FLANNER, 1996).

O fator de semelhança f2 também foi calculada pelo *software* DD Solver<sup>®</sup>, considerando valores acima de 50 como semelhantes e abaixo sem semelhança entre os perfis.

#### 2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução

Para verificar-se o mecanismo cinético envolvido na liberação do cetoprofeno a partir dos comprimidos, os modelos matemáticos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas foram aplicados utilizando-se o *software* DD Solver<sup>®</sup>. A partir dos coeficientes de correlação (*r*) obtidos, o modelo com o valor mais próximo a 1 foi selecionado como o mais adequado.

A partir do modelo escolhido, determinou-se também a velocidade de dissolução (*k*), o tempo necessário para liberar 50% ( $t_{50\%}$ ) e 90% ( $t_{90\%}$ ) de cetoprofeno.

### 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 TESTES FÍSICOS

Todos os comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> avaliados apresentaram-se íntegros, com a coloração branca e homogênea e sem imperfeições. A Tabela 15 apresenta os valores de peso médio, dureza, friabilidade e teor para os comprimidos analisados:

**Tabela 15** - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup>

Teste aplicado	Resultado obtido	Valores de referência
Peso médio (mg) $\pm$ DP	510 $\pm$ 0,29	5% para mais ou para menos
Dureza (kgf) $\pm$ DP	11,14 $\pm$ 0,58	Não há especificação
Friabilidade (%)	0,04	Máximo 1,5%
Teor (%) $\pm$ DP	99,4 $\pm$ 1,07	Mínimo 90% e máximo 110%

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), para comprimidos com peso médio acima de 250 mg, é aceitável um limite de variação de  $\pm$  5% e apenas 2 unidades podem estar fora desse limite. No caso, todos os comprimidos analisados estavam dentro do limite preconizado.

O teste de dureza, segundo Farmacopeia Brasileira (2010), é um teste informativo, não havendo especificação. A dureza média encontrada para os comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> foi de 11,14 kgf.

Para o teste de friabilidade de comprimidos com peso médio inferior a 650 mg, como é o caso dos comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup>, é descrito na Farmacopeia Brasileira (2010) que o teste seja feito com 20 unidades. Nenhum comprimido deve apresentar-se lascado, quebrado ou com fissura após o ensaio e a perda de massa deve ser de, no máximo, 1,5%. A perda de apenas 0,04% de massa encontra-se dentro do limite estabelecido.

Os comprimidos analisados apresentam um teor de 99,4%, valor aceitável pela Farmacopeia Americana (USP, 2011) que preconiza um teor de 90 a 110%

### 3.2 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

Segundo a Farmacopeia Americana (2011), condição *sink* é o volume de meio no mínimo 3 vezes maior do que aquele necessário para se obter uma solução saturada do fármaco (USP, 2011). Os resultados do estudo de solubilidade bem como o volume necessário para obter a condição *sink* estão descritos na Tabela 16:

**Tabela 16** – Solubilidade de equilíbrio do cetoprofeno em diferentes meios de dissolução

Meio de dissolução	Tempo necessário para atingir a solubilidade de equilíbrio (h)	Solubilidade de equilíbrio (mg/mL) $\pm$ DP
Tampão fosfato pH 4,5	24	0,63 $\pm$ 0,11
Tampão fosfato pH 5,5	24	0,85 $\pm$ 0,30
Tampão fosfato pH 6,0	48	1,76 $\pm$ 0,16
Tampão fosfato pH 6,4	48	4,41 $\pm$ 0,21
Tampão fosfato pH 6,8	48	8,64 $\pm$ 0,45
Tampão fosfato pH 7,0	48	8,70 $\pm$ 0,80
Meio biorrelevante pH 6,8	48	4,52 $\pm$ 1,06

Os resultados mostram que o fármaco apresenta um perfil de solubilidade dependente de pH, sendo que quanto maior o pH melhor a sua solubilidade. O comportamento é justificado pelas características físico-químicas do fármaco. Por ser um ácido fraco com valores de pka de 4,39, 4,45 e 4,76, o fármaco se ioniza quanto maior o valor do pH e, consequentemente, sua solubilidade será maior (SHOHIN et al., 2012).

O fármaco, em meio biorrelevante pH 6,8, solubilizou-se menos do que em tampão fosfato nas mesmas condições de pH, o que não motivou a realização de ensaio de dissolução em meio biorrelevante.

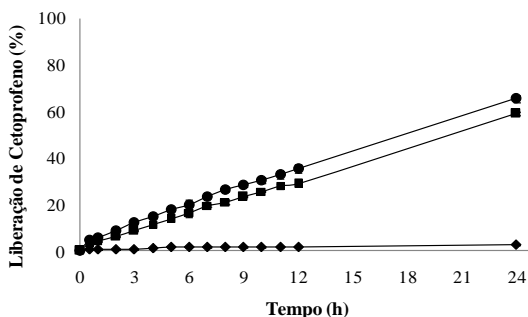
A condição *sink* pôde ser mantida para todos os meios de dissolução, visto que a condição de trabalho proposta foi de 1000 mL para aparato 2 e 1500 mL (6 cubas com 250 mL) para aparato 3.

### 3.3 PERFIS DE LIBERAÇÃO DO CETOPROFENO A PARTIR DE COMPRIMIDOS DE PROFENID RETARD<sup>®</sup>

#### 3.3.1 Aparato 2 - pá

Os perfis de dissolução dos comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> em aparato 2, usando como meio de dissolução o tampão fosfato 50 mM com valores de pH de 4,5; 6,4 e 6,8, podem ser observados na Figura 16. Pelo comportamento de liberação conclui-se que os comprimidos analisados apresentam perfil de liberação modificada, pois são capazes de liberar o fármaco gradativamente em função do tempo. Isto se deve à característica físico-química do fármaco (que se solubiliza em valores de pH mais elevados, como já foi discutido anteriormente), mas também devido às características do revestimento dos comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup>, que confere a eles condições para não liberar o fármaco em meio mais ácido conforme foi observado nos resultados.

**Figura 16** - Perfis de dissolução de cetoprofeno (Profenid Retard<sup>®</sup>) em aparato 2 e em diferentes meios, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8



A Tabela 17 mostra a porcentagem de liberação do fármaco com seu respectivo desvio padrão (DP) nos tempos de 1, 4, 8 e 24 h e a ED.

**Tabela 17** - Porcentagem de dissolução em 1, 4, 8, 24 h e ED dos perfis obtidos com comprimidos Profenid Retard<sup>®</sup> em aparato 2

Meio	Liberação em 1 h (% ± DP)	Liberação em 4 h (% ± DP)	Liberação em 8 h (% ± DP)	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
pH 4,5	0,42 ± 0,050	0,96 ± 0,13	1,69 ± 0,08	2,61 ± 0,35	1,67 ± 0,19
pH 6,4	4,10 ± 0,11	11,23 ± 0,27	20,87 ± 0,94	58,90 ± 0,76	29,88 ± 0,31
pH 6,8	5,83 ± 0,16	14,76 ± 0,41	26,31 ± 0,96	65,34 ± 1,59	35,06 ± 0,93

Segundo a Farmacopeia Americana (USP, 2011), os comprimidos de cetoprofeno de liberação prolongada devem atender aos seguintes critérios em meio tampão fosfato pH 6,8: 1) em 1 h liberar de 10 a 25% do fármaco; 2) em 4 h liberar de 55 a 80% do fármaco e, 3) em 8 h liberar mais de 80% do fármaco. Os valores obtidos não atendem às especificações farmacopeicas, apresentando uma liberação muito mais lenta do que o preconizado. Nesse sentido sugerem-se 2 hipóteses: a primeira é que a velocidade de agitação adotada no método farmacopeico talvez não seja adequada para promover a liberação total do fármaco a partir da forma farmacêutica, sendo interessante testar uma velocidade superior, como 100 rpm, por exemplo. A segunda hipótese pode ser devido à própria formulação, que não é capaz de promover a liberação total do fármaco.

Trabalho publicado por Comoglu e colaboradores (2007) mostrou que os comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> em pH 7,4 apresentaram um perfil de liberação lento, com apenas 35% do fármaco dissolvido em cerca de 7 horas de análise. Os dados são semelhantes aos encontrados no presente trabalho, uma vez que em 8 horas apenas 26,31% do fármaco havia sido dissolvido em pH 6,8.

Em outro estudo, publicado por Corrigan, Devlin e Butler (2003) os autores mostram que a liberação de cetoprofeno é influenciada não apenas pelo pH do meio de dissolução, mas também pela capacidade tamponante deste. Os autores concluem que há uma dificuldade em escolher um único meio para avaliar o perfil de dissolução do cetoprofeno, tendo em vista que até mesmo os excipientes ácidos são capazes de diminuir a taxa de dissolução do fármaco.

Os valores de f2 mostram que existe similaridade apenas entre os perfis em pH 6,4 e em pH 6,8 (Tabela 18). Da mesma forma

verificou-se que não houve diferença significativa entre as ED destes perfis, aplicando o teste *t de Student*.

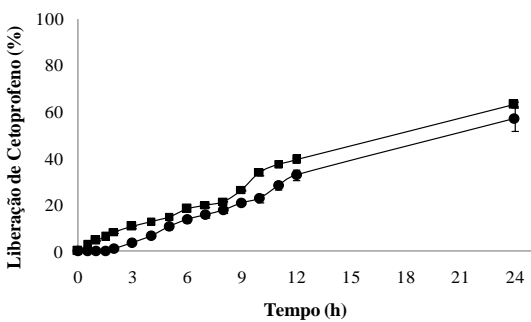
**Tabela 18** - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos de Profenid Retard®

Comparação	Valores de f2	Diferentes?
pH 4,5 x pH 6,4	33,41	Sim
pH 4,5 x pH 6,8	29,72	Sim
pH 6,4 x pH 6,8	67,94	Não

3.3.2 Aparato 3

A Figura 17 mostra os perfis de liberação obtidos para os comprimidos de Profenid Retard® em aparato 3. O comportamento foi semelhante ao aparato 2, em que os perfis apresentaram uma liberação máxima de 62% (Tabela 19), mais lenta do que o esperado e que também não atende as especificações farmacopeicas.

**Figura 17** - Perfis de liberação de comprimidos de Profenid Retard® em aparato 3, sendo: (●) gradiente de pH, e (■) tampão fosfato pH 6,8



**Tabela 19** - Porcentagem de dissolução em 1, 4, 8, 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos de Profenid Retard®

Meio	Liberação em 1 h (% ± DP)	Liberação em 4 h (% ± DP)	Liberação em 8 h (% ± DP)	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
Com grad. pH 6,8	0,15 ± 0,02	6,54 ± 0,50	17,66 ± 1,32	57,05 ± 5,28	29,00 ± 1,79
	4,41 ± 0,32	12,84 ± 0,84	21,44 ± 0,16	62,89 ± 1,25	35,00 ± 0,81

A Figura 17 também mostra o comportamento do comprimido quando submetido ao meio mais ácido. No perfil de dissolução com gradiente é observado que a liberação em pH 4,5 e 5,5 foi praticamente nula. Esse fato ocorre devido ao revestimento entérico apresentado nos comprimidos matriciais de Profenid Retard<sup>®</sup>.

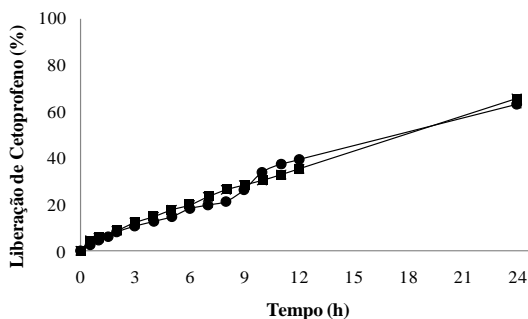
O  $f_2$  de 60,0 e a avaliação por teste *t de student* mostra que o perfil em pH 6,8 e com gradiente no aparato 3 são semelhantes entre si.

### 3.3.3 Impacto do aparato de dissolução na liberação do cetoprofeno em comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup>

A Figura 18 apresenta uma comparação dos perfis obtidos em tampão fosfato pH 6,8 nos aparatos 2 e 3. A semelhança entre os perfis ( $f_2 = 60,62$ ), com liberação de 67,94% do fármaco em aparato 2 e 62,89% em aparato 3, após 24 horas de análise, indica que os comprimidos não sofrem com as diferentes forças hidrodinâmicas nas condições testadas.

A agitação de 10 dip/min no aparato 3 corresponde a 100 rpm no aparato 2 (KOSTEWICZ et al., 2014). Nesse sentido, era previsto que a velocidade de dissolução em aparato 3 fosse maior quanto comparada à velocidade de 50 rpm no aparato 2. Na prática, entretanto, isto não foi observado, o que pode ser explicado pela diferença de equipamentos e forças mecânicas potenciais atuantes sobre a estrutura da forma farmacêutica (MISSAGHI; FASSIHI, 2005).

**Figura 18** - Perfis de liberação de comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> em tampão fosfato pH 6,8, sendo (■) Aparato 2 e (●) Aparato 3



### 3.3.4 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução *in vitro*

Aplicando os modelos cinéticos pode-se definir, através do coeficiente de correlação ( $r$ ) mais próximo de 1, o modelo cinético que melhor representa o perfil de dissolução dos comprimidos de Profenid Retard®. Os valores obtidos na aplicação destes modelos estão apresentados na Tabela 20.

Os valores indicam que em aparato 2 a cinética de liberação apresenta-se como de ordem zero, com  $t_{50\%}$  de 16,97 h e  $t_{90\%}$  de 30,55 h. Já em aparato 3, o modelo Hixson-Crowell apresenta o melhor “ $r$ ”.

**Tabela 20** - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Profenid Retard®

	Aparato 2 pH 6,8	Aparato 3 pH 6,8
	$r$	$r$
Ordem Zero	0,9968	0,9868
Primeira ordem	0,9926	0,9895
Higuchi	0,9659	0,9570
Korsmeyer Peppas	0,9935	0,9904
Hixson-Crowell	0,9967	0,9918

### 3.4 QUANTIFICAÇÃO DO CETOPROFENO POR ESPECTROSCOPIA NO ULTRAVIOLETA

Os dados abaixo indicam que o método analítico empregado para quantificar o fármaco nos estudos de solubilidade e dissolução pode ser considerado adequados, uma vez que os parâmetros de linearidade e especificidade foram alcançados.

#### 3.4.1 Linearidade, LD e LQ

A linearidade foi obtida através da elaboração da curva analítica. Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo de aceitação do coeficiente de correlação é de 0,99 (BRASIL, 2003). A curva mostrou que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do fármaco na faixa de 1 a 16  $\mu\text{g/mL}$ , com equação da reta  $y=0,062x-0,012$  e coeficiente de correlação linear de 0,999.

A sensibilidade do método foi avaliada através da determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) apresentando os valores de 0,27  $\mu\text{g/mL}$  e 0,81  $\mu\text{g/mL}$ ,

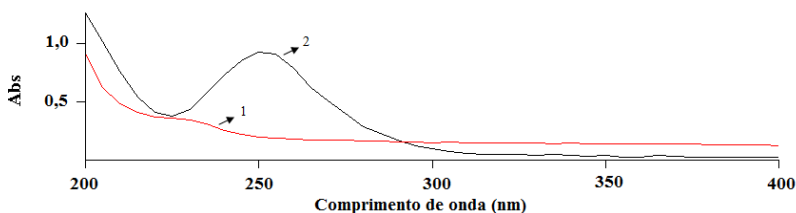


respectivamente. Como ambas as concentrações obtidas correspondem a valores menores que o primeiro ponto da curva de calibração, pode-se concluir que o método é sensível para a aplicação proposta.

### 3.4.2 Especificidade

De acordo com os espectros obtidos (Figura 19), pode-se concluir que o método foi específico, não havendo interferências dos excipientes no comprimento de onda selecionado, 258 nm.

**Figura 19** - Espectro UV do cetoprofeno na presença de diversos excipientes. Sendo, 1: excipientes e 2: cetoprofeno



## 3.5 QUANTIFICAÇÃO DO CETOPROFENO POR CLAE

Com intuito de quantificar o cetoprofeno em meio biorrelevante durante o estudo de solubilidade, foi proposto um método de quantificação de cetoprofeno por CLAE e para isso foi avaliado linearidade, LD, LQ e especificidade.

### 3.5.1 Linearidade, LD e LQ

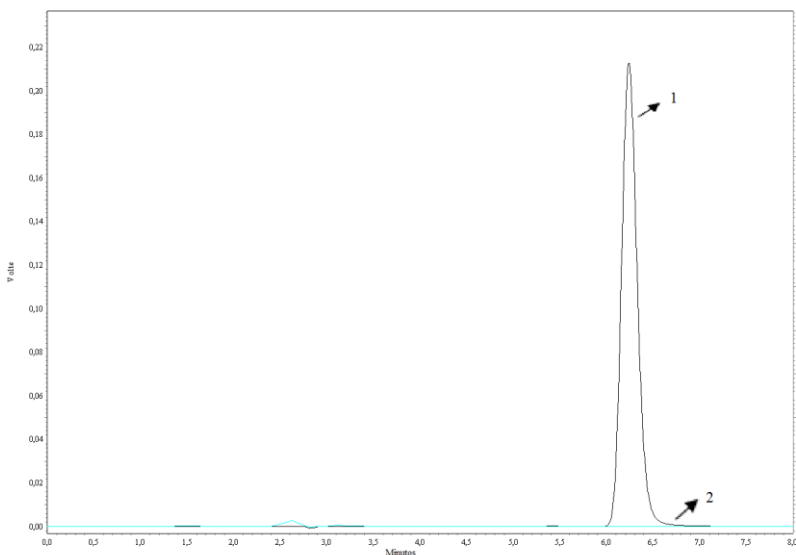
O ensaio apresentou uma correlação linear para a faixa de concentração de 0,97 a 500 µg/mL, com coeficiente de correlação de 0,99 e equação da reta  $y = 70781x + 31528$ .

O LD foi de 0,12 µg/mL e o LQ de 0,26 µg/mL. Como ambas as concentrações obtidas correspondem a valores menores que o primeiro ponto da curva de calibração, pode-se concluir que o método é sensível para a aplicação proposta.

### 3.5.2 Especificidade

A especificidade do método foi comprovada através da comparação entre o cromatograma obtido para o meio de dissolução biorrelevante e o fármaco puro, conforme apresentado na Figura 20 , mostrando que pelo método por CLAE, o meio não interfere na quantificação do fármaco.

**Figura 20** – Cromatograma do cetoprofeno em meio biorrelevante obtido por CLAE, sendo 1: cetoprofeno e 2 meio biorrelevante



## 4 CONCLUSÃO

De acordo com os resultados, o perfil de dissolução obtido para os comprimidos de Profenid Retard® em aparato 2, utilizando tampão fosfato pH 6,8 como meio, não atendeu às especificações preconizadas pela Farmacopeia Americana (2011), apresentando um perfil de liberação mais lento do que o preconizado na monografia. Dessa forma, sugere-se que o método seja revisto no que se refere à velocidade de agitação, meios de dissolução e, seja avaliado frente a diferentes formulações. Não foram observadas diferenças entre os aparatos, bem como o uso de meio com gradiente de pH. Os dados de solubilidade corroboram com os obtidos no teste de dissolução, indicando que o

fármaco apresenta um perfil de dissolução pH-dependente. Ainda, os dados de solubilidade em meio biorrelevante não foram superiores aos obtidos para tampão fosfato pH 6,8, indicando que os componentes do meio biorrelevante não têm um impacto positivo na solubilidade, justificando o não uso do mesmo no ensaio de dissolução.



## **CAPÍTULO IV**

### **DESENVOLVIMENTO, COMPARAÇÃO E VALIDAÇÃO DE MÉTODOS DE DISSOLUÇÃO PARA COMPRIMIDOS DE LIBERAÇÃO MODIFICADA CONTENDO O FÁRMACO GLICLAZIDA**

---

# 1 INTRODUÇÃO

A gliclazida é um fármaco hipoglicemiante da classe das sulfonilureias usada como uma opção de segunda linha aos pacientes com diabetes tipo 2, cujo tratamento com metformina apresenta alguma contra indicação. Estima-se que em países desenvolvidos cerca de 30% dos pacientes em uso de hipoglicemiantes utilizem alguma sulfonilureia, por ser um medicamento de baixo custo e por atender às expectativas farmacológicas atribuídas a esses fármacos (RADOS; PINTO; REMONTI, 2015).

Classificada como um fármaco de classe II pelo BCS, a gliclazida apresenta-se praticamente insolúvel em água, com uma alta permeabilidade e com um pKa de 5,8 (F. BRAS, 2010; JONDALE; BRISE; PORE, 2012; VARSHOSAZ; TAVAKOLI; ENTESHARY, 2013). Sua solubilidade é dependente de pH, sendo que quanto mais básico o meio mais o fármaco é capaz de solubilizar-se (LAKKA; GOSWANI, 2012; PRIYA; MURTHY, 2012).

As Farmacopeias Brasileira, Americana e Britânica, não apresentam disponível uma metodologia para o ensaio de dissolução de comprimidos de liberação modificada de gliclazida (F. BRITÂNICA, 2008; F. BRAS., 2010; USP, 2011). Partindo desse pressuposto, alguns artigos foram publicados propondo uma metodologia (LAKKA; GOSWANI, 2012; PRIYA; MURTHY, 2012; VARSHOSAZ; TAVAKOLI; ENTESHARY, 2013), entretanto, nenhum destes avaliou o comportamento do fármaco inserido numa forma farmacêutica de liberação prolongada em uma ampla gama de condições experimentais, incluindo meio biorrelevante, aparato 2 e 3 com distintas condições experimentais.

O desenvolvimento de um novo método de dissolução inclui, além da investigação de distintas condições experimentais, de sua validação analítica. Assim, parâmetros como especificidade, linearidade, sensibilidade, precisão, exatidão e robustez devem ser avaliados (USP, 2011).

Neste contexto, o objetivo deste capítulo foi comparar os perfis de dissolução dos comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg utilizando 3 equipamentos distintos, Aparato 1 (cesta), Aparato 2 (pá) e Aparato 3 (Bio dis), variando a velocidade de agitação (aparato 1 e 2) e o pH do meio de dissolução. A partir da seleção das condições experimentais mais adequadas, estas foram aplicadas à utilização do meio biorrelevante FaSSIF e aos estudos de controle de qualidade através da avaliação do perfil de dissolução do medicamento de referência

Diamicron MR<sup>®</sup> 30 mg. A validação analítica dos métodos utilizados foi realizada de acordo com as normativas oficiais pertinentes (ICH, 2005; USP, 2011).

## **2 METODOLOGIA**

### **2.1 MATERIAIS**

O fármaco gliclazida foi fornecido por Les Laboratoires Servier (Rio de Janeiro, Brasil) sob número de lote 20150968. Os comprimidos comerciais matriciais de liberação modificada analisados foram o medicamento similar Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg, produzido por Torrent Pharma<sup>®</sup> (São Paulo, Brasil, lote BM20A077, validade: 08/2016) e o medicamento de referência Diamicron MR<sup>®</sup> 30 mg, produzido por Servier do Brasil Ltda (lote: 3004787; validade: 02/2018).

A água utilizada foi de característica ultra pura obtida a partir de um Sistema de Gradiente Milli-Q (Millipore, Bedford, Estados Unidos). Os reagentes (ácidos, bases, solventes e sais) de grau analítico ou grau cromatográfico, bem como os equipamentos utilizados nos ensaios foram disponibilizados pelo laboratório de Controle de Qualidade da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). O meio biorrelevante usado foi o FaSSIF, FeSSIF & FaSSGF Powder<sup>®</sup> (lote: 01-1502004NP) do Laboratório Phares Drug Delivery AG, Muttentz, Suíça.

### **2.2 MÉTODOS**

#### **2.2.1 Testes físicos dos comprimidos**

##### **2.2.1.1 Peso médio**

A avaliação de peso médio foi realizada conforme descrito na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010). Vinte unidades de comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> e posteriormente de Diamicron MR<sup>®</sup> foram pesados individualmente em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e o peso médio foi determinado a partir da média das medidas  $\pm$  desvio padrão.

### 2.2.1.2 Dureza

Determinou-se a dureza conforme preconizado na Farmacopeia Brasileira (F. BRAS., 2010) em 10 unidades de comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> e posteriormente de Diamicon MR<sup>®</sup>. Os comprimidos foram submetidos, individualmente, à ação de durômetro (Nova Ética, 298-AT), sendo medida a força necessária para esmagá-los. Os valores foram avaliados quanto à sua média e desvio padrão.

### 2.2.1.3 Friabilidade

O teste de friabilidade foi realizado de acordo com a Farmacopeia Brasileira. Para tanto, vinte comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> e posteriormente de Diamicon MR<sup>®</sup> foram pesados em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2) e submetidos à ação de friabilômetro (Nova Ética, 300) a 25 rotações por min durante 4 min. Após o ensaio, os resíduos foram removidos com auxílio de pinça e as amostras foram novamente pesadas. A diferença entre o peso inicial e o final dos comprimidos representou a friabilidade em função da percentagem de pó perdido (F. BRAS., 2010).

### 2.2.1.4 Doseamento

Para avaliar o teor utilizou-se a espectrofotometria na região do ultravioleta. Para o teste, 10 comprimidos de cada medicamento foram triturados e a massa equivalente a 30 mg de glicazida foi pesada em balança analítica (RADWAG, AS/60/220/C/2). Em seguida, a amostra foi transferida para balão volumétrico de 100 mL, com auxílio de 50 mL de metanol e foi mantida em banho ultrasson por 60 min para completa solubilização do fármaco. Após, o volume foi completado com o mesmo solvente, para obter a concentração de 300 µg/mL. Esta solução foi homogeneizada e filtrada em filtro Millipore 0,45 µm e do filtrado retirou-se alíquota necessária para obter solução 10 µg/mL, em água. As leituras de absorbância foram realizadas em comprimento de onda de 235 nm, utilizando água como o branco, em espectrofotômetro UV/vis (Varian UV). O teor de fármaco foi determinado através de equação da reta ( $y = ax + b$ ) previamente desenvolvida, conforme descrito na validação do método (2.2.2.1). O teor médio foi expresso em porcentagem  $\pm$  desvio padrão.



## **2.2.2. Metodologias de quantificação da gliclazida**

A quantificação da gliclazida foi realizada utilizando a espectrofotometria na região do ultravioleta (UV) ou a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), de acordo com a necessidade e a seletividade requerida. Para tal foram avaliados os parâmetros de especificidade, linearidade, limite de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ).

### **2.2.2.1 Espectrofotometria na região UV**

Este método foi utilizado para avaliação do teor e nos estudos de solubilidade e dissolução.

#### **2.2.2.1.1 Especificidade**

A fim de verificar a interferência dos excipientes na quantificação de gliclazida, realizou-se varredura na faixa espectral de 200 a 400 nm de uma solução contendo os excipientes mencionados na bula dos medicamentos. A faixa de concentração destes foi determinada com base em compêndios oficiais (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009). Neste sentido, suspensão aquosa contendo lactose, estearato de magnésio, povidona (PVP) e dióxido de silício foi preparada. A amostra foi filtrada em papel filtro quantitativo e analisada.

#### **2.2.2.1.2 Linearidade**

A partir de solução estoque de gliclazida, preparada na concentração de 500 µg/mL em metanol, foram realizadas diluições para obter as concentrações de 2, 5, 10, 20 e 25 µg/mL em água. As soluções foram analisadas em 235 nm. Com os valores de absorvâncias obtidos em função da concentração da gliclazida foram calculados os coeficientes de correlação e a equação da reta de calibração  $y = ax + b$ , em que  $y$  que corresponde à absorvância e  $x$  à concentração em µg/mL. As curvas foram preparadas em triplicata.

#### **2.2.2.1.3 LD e LQ**

Os LD e o LQ da gliclazida foram determinados a partir do desvio padrão da resposta ( $\sigma$ ) e do coeficiente angular ( $S$ ) (Equações 5

e 6), obtidos através da equação da reta das curvas de calibração analisadas.

#### 2.2.2.2 Cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Para a quantificação da gliclazida por CLAE, utilizou-se cromatógrafo Shimadzu LC-10A (Kyoto, Japão) e coluna analítica Phenomenex Luna C18 (250 × 4,6 mm, 5 µm) acoplada a uma pré coluna (C18, 4,0 × 3,0 mm). A fase móvel foi composta por metanol e tampão fosfato 10 mM pH 3,5 (70:30 v/v), eluída isocraticamente em fluxo de 1,0 mL/min, temperatura de 25°C, volume de injeção de 20 µL e comprimento de onda de 235 nm. As amostras coletadas foram filtradas em filtro Millipore® com diâmetro de poro de 0,45 µm. Os dados obtidos foram analisados em *software* CLASS-VP.

Este método foi utilizado na avaliação da dissolução da gliclazida em meio biorrelevante.

##### 2.2.2.2.1 Especificidade

A fim de verificar a interferência do meio biorrelevante na quantificação de gliclazida, solução FaSSIF simulando a condição do intestino em jejum foi preparada em pH 6,8 e analisada por CLAE, utilizando as condições descritas anteriormente.

##### 2.2.2.2.2 Linearidade

A partir de solução estoque de gliclazida, preparada na concentração de 500 µg/mL em metanol, foram realizadas diluições para obter as concentrações de 1, 10, 50, 100 e 150 µg/mL em água. As soluções foram analisadas por CLAE, utilizando as condições descritas anteriormente. Com os valores de áreas obtidas em função da concentração da gliclazida foram calculados os coeficientes de correlação e a equação da reta de calibração  $y = ax + b$ , em que  $y$  que corresponde à área e  $x$  à concentração em µg/mL. As curvas foram preparadas em triplicata.

##### 2.2.2.2.3 LD e LQ

Os LD e LQ da gliclazida foram determinados a partir do desvio padrão da resposta ( $\sigma$ ) e do coeficiente angular ( $S$ ) (Equações 5

e 6), obtidos através da equação da reta das curvas de calibração analisadas.

### 2.2.3 Estudos de solubilidade

A solubilidade de equilíbrio da gliclazida em soluções tampão com diferentes valores de pH (pH 4,5; 5,5; 6,0; 6,4; 6,8 e 7,0), bem como em meio biorrelevante pH 6,8, foi verificada em triplicata, utilizando o método por CLAE previamente descrito para o meio biorrelevante e o método UV/vis para os demais meios. Para tanto, um excesso de fármaco foi adicionado a 25 mL de cada solução tampão e mantido sob agitação, em becker, por 48 horas, em temperatura ambiente. As alíquotas foram coletadas em 6, 12, 24 e 48 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas por CLAE ou UV/vis, utilizando as condições descritas anteriormente.

Para avaliar o impacto da solubilidade da gliclazida em meio biorrelevante pH 6,8 em relação à solubilidade do fármaco em tampão fosfato pH 6,8, a razão das concentrações obtidas foi calculada conforme Equação 9 proposta por Ottaviani e colaboradores (2015).

$$\text{Aumento da Solubilidade} = \frac{\text{Solubilidade}^{\text{FaSSIF}}}{\text{Solubilidade}^{\text{tampão fosfato}}} \quad \text{Equação 9}$$

### 2.2.4 Ensaios de dissolução

Visando verificar o impacto de diferentes parâmetros de dissolução como aparato (aparato 1 e 2), meio e velocidade de rotação, os comprimidos comerciais Azukon MR<sup>®</sup> foram submetidos a diferentes ensaios de dissolução. Após a seleção do método de dissolução mais adequado para avaliação de comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida, o mesmo foi aplicado para a formulação de referência Diamicon MR<sup>®</sup>.

#### 2.2.4.1 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 1 - cesta

O ensaio de dissolução utilizando o aparato 1 (cesta) foi realizado empregando-se equipamento de dissolução Varian (VK 7000). Os ensaios foram realizados em triplicata, com 1000 mL de tampão fosfato 50 mM com diferentes valores de pH (4,5; 6,4 e 6,8), sob agitação de 50 e de 100 rpm. As soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). A

temperatura utilizada no teste foi de  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , por um período de 24 h. Alíquotas de 5 mL foram coletadas nos tempos de 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas em por espectrofotometria no UV/vis para determinação do percentual de fármaco liberado. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

#### 2.2.4.2 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 2 - pá

As condições experimentais do ensaio de dissolução em aparato 2 foram mantidas idênticas às descritas para o aparato 1, trocando-se apenas a cesta pela pá. Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

#### 2.2.4.3 Ensaios de dissolução em aparato farmacopeico 3 – Bio-Dis

O perfil de liberação dos comprimidos de liberação modificada de gliclazida foi realizado em equipamento de dissolução Bio-Dis (Erweka, RRT10). Os ensaios foram realizados em triplicata, sob duas situações distintas; em um primeiro ensaio, utilizou-se um gradiente de pH visando mimetizar as condições fisiológicas do trato gastrointestinal em estado alimentado (WEN; PARK, 2010) (Tabela 21). As soluções tampão foram preparadas conforme preconizado pela Farmacopeia Americana (USP, 2011). A fim de avaliar a influência da hidrodinâmica do aparato, um segundo ensaio foi realizado mantendo-se as amostras por 24 horas em solução tampão fosfato com apenas um valor de pH (6,8).

**Tabela 21** - Condições experimentais para ensaio em Aparato 3 (Bio-Dis)

Cuba	pH		Tempo (min )
	Ensaio 1	Ensaio 2	
1	4,5	6,8	60
2	5,5	6,8	30
3	6,0	6,8	120
4	7,0	6,8	90
5	6,4	6,8	300
6	6,8	6,8	840

As cubas foram preenchidas com 250 mL de tampão fosfato 50 mM no seu respectivo valor de pH, a  $37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ , com velocidade de 10 dip/min e malha de 420 *mesh*. Alíquotas de 5 mL de cada cuba foram

coletadas nos tempos de 0,5;1;1,5;2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h e analisadas por UV/vis.

#### 2.2.4.4 Ensaios de dissolução em meio biorrelevante

Com o objetivo de avaliar o impacto do meio biorrelevante no perfil de liberação da gliclazida, ensaios de dissolução foram realizados em triplicata utilizando este meio e o aparato 2. Para tanto, utilizou-se velocidade de agitação de 100 rpm e 350 mL de meio de dissolução mantidos a  $37 \pm 0,5$  °C. O ensaio foi realizado durante 24 h, com os mesmos pontos de coletas descritos anteriormente (0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 7; 8; 9; 10; 11; 12 e 24 h).

A preparação do meio biorrelevante simulando o intestino em jejum foi preparada de acordo com as instruções do fabricante (Phares Drug Delivery AG, MuttENZ, Suíça) a partir de produto comercial composto por uma mistura de lecitina e taurocolato de sódio. Tomando como base o volume final a ser preparado, solubilizou-se uma fração de hidróxido de sódio (NaOH), cloreto de sódio (NaCl) e fosfato de pótassio anidro ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) em aproximadamente 3/4 do total de água utilizado (Tabela 22). Ajustou-se o pH para 6,8 e o volume final foi completado com água. O meio biorrelevante, composto pela mistura de lecitina e taurocolato de sódio, foi adicionado a esta solução, sob agitação, até completa solubilização. Esta solução foi então mantida em repouso por 2 h antes da sua utilização.

**Tabela 22** –Preparação de 350 mL de meio de dissolução biorrelevante pH 6,8.

<b>Matéria-prima</b>	<b>Quantidade necessária (g)</b>
Meio Biorrelevante	0,784
$\text{NaH}_2\text{PO}_4$	1,384
NaOH	0,147
NaCl	2,165

Para quantificação do percentual de gliclazida liberado no meio biorrelevante, utilizou-se método por CLAE, empregando as condições previamente descritas no item 2.2.2.2.

## 2.2.5 Métodos de comparação dos ensaios de dissolução

A eficiência de dissolução (ED) e o fator de semelhança (f2) foram empregados para comparar os perfis de dissolução das amostras analisadas.

### 2.2.5.1 Eficiência de Dissolução (ED)

A ED dos perfis de dissolução de comprimidos de liberação modificada de gliclazida foi estabelecida calculando-se a área sob a curva de dissolução (método dos trapezóides), proposto inicialmente por Khan e Rhodes (KHAN; RHODES, 1975). O valor de ED foi determinado pela razão entre a área sob a curva de dissolução compreendida entre 0 e 24 h ( $ASC_{0-24 \text{ horas}}$ ) e a área total do retângulo ( $ASC_{TOTAL}$ ), definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abscissa (24 h), conforme Equação 7. As áreas sob a curva foram determinadas através do *software* DD Solver<sup>®</sup>. Os valores de ED foram comparados através de teste *t* de *student*, com intervalo de confiança de 95% e empregando-se o *software* DD Solver<sup>®</sup>.

### 2.2.5.2 Fator de semelhança (f2)

O f2, proposto por Moore e Flanner em 1996, é uma medida de semelhança entre as porcentagens dissolvidas de dois perfis de liberação, correspondentes a um produto de referência e um teste, e é representado pela Equação 8 (COSTA; LOBO, 2001; MOORE; FLANNER, 1996).

O fator de semelhança f2 também foi calculada pelo *software* DD Solver<sup>®</sup>, considerando valores acima de 50 como semelhantes e abaixo sem semelhança entre os perfis.

### 2.2.5.3 Modelos matemáticos de cinética de dissolução

Para verificar-se o mecanismo cinético envolvido na liberação da gliclazida, os modelos matemáticos de ordem zero, primeira ordem, Higuchi e Korsmeyer-Peppas foram aplicados utilizando-se o *software* DD Solver<sup>®</sup>. A partir dos coeficientes de correlação (*r*) obtidos, o modelo com o valor mais próximo a 1 foi selecionado como o mais adequado.

A partir do modelo escolhido, determinou-se também a velocidade de dissolução ( $k$ ), o tempo necessário para dissolver 50% ( $t_{50\%}$ ) e 90% ( $t_{90\%}$ ) de gliclazida.

## 2.2.6 Validação analítica do ensaio de dissolução

Após a realização dos ensaios de dissolução nas diferentes condições descritas anteriormente, o ensaio de dissolução em aparato 2, com rotação de 100 rpm, utilizando 1000 mL de tampão fosfato pH 6,8 como meio de dissolução, foi selecionado como o mais adequado para a avaliação do perfil de dissolução de comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida.

Desta forma, este ensaio de dissolução foi validado de acordo com as atuais normativas (ICH, 2005; USP, 2011). Além dos parâmetros de linearidade, LQ e LD, previamente descritos nos itens 2.2.2.1.2 e 2.2.2.1.3, foram avaliados os parâmetros de especificidade, exatidão, precisão e estabilidade no meio de dissolução.

### 2.2.6.1 Especificidade

A especificidade foi avaliada através de varredura do meio de dissolução na faixa de 200 a 400 nm.

### 2.2.6.2 Exatidão e precisão

A exatidão foi realizada através de recuperação de concentrações conhecidas de gliclazida adicionadas ao meio de dissolução. Alíquotas de solução estoque de gliclazida na concentração de 500 µg/mL em metanol foram transferidas às cubas contendo 1000 mL de meio de dissolução, de modo que a concentração final de fármaco fosse de 12, 15 e 18 µg/mL. Estas concentrações foram selecionadas de acordo com a faixa de linearidade, correspondendo a 80, 100 e 120% do ponto médio da curva, respectivamente. Alíquotas foram retiradas ao final do ensaio, filtradas em papel filtro quantitativo e analisadas em 235 nm.

A precisão do método foi avaliada pela repetibilidade (intra-dia) e pela precisão intermediária (inter-dia: 2 dias diferentes) das soluções de 15 µg/mL utilizadas no teste de exatidão, e foram estabelecidas em termos de valores de desvio padrão relativo (DPR).

Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

### 2.2.6.3 Estabilidade no meio de dissolução

Amostras de gliclazida na concentração de 15 µg/mL, em triplicata, foram submetidas ao ensaio de dissolução analisadas em 12 e 24 h. Os resultados foram expressos em percentual de gliclazida  $\pm$  desvio padrão.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 TESTES FÍSICOS

Avaliar as características físicas dos comprimidos mostra-se relevante para obter os primeiros dados de controle de qualidade, uma vez que os resultados podem ser capazes de mostrar divergências entre as unidades do mesmo lote, sendo estes passíveis de reprovação. Além disso, através dos testes físicos é possível obter dados que justifiquem o comportamento em ensaios subsequentes (ANSEL; POPOVICH; ALLEN JR, 2010).

Em relação às características organolépticas, tanto os comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> quanto de Diamicron MR<sup>®</sup> apresentaram-se íntegros, com a coloração branca e homogênea e sem imperfeições. Os resultados referentes à determinação de peso médio, dureza, friabilidade e teor estão apresentados na Tabela 23:

**Tabela 23** - Resultados referentes aos testes físicos dos comprimidos comerciais de gliclazida

<b>Teste aplicado</b>	<b>Resultado obtido para Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg</b>	<b>Resultado obtido para Diamicron MR<sup>®</sup> 30 mg</b>	<b>Valores de referência</b>
Peso médio (mg) $\pm$ DP	159 $\pm$ 0,93	161 $\pm$ 1,05	7,5% para mais ou para menos
Dureza (kgf) $\pm$ DP	18,27 $\pm$ 3,44	10,92 $\pm$ 1,24	Não há especificação
Friabilidade (%)	0,09	0,26	Até 1,5%
Teor (%) $\pm$ DP	97,11 $\pm$ 4,83	97,00 $\pm$ 0,56	No mínimo 95% e no máximo 105%

De acordo com a Farmacopeia Brasileira (2010), para comprimidos com peso médio entre 80 e 250 mg, é aceitável um limite de variação de 7,5% para mais ou para menos e apenas 2 unidades



podem estar fora desse limite. Neste caso, ambos os comprimidos foram considerados aprovados neste quesito.

Para o teste de dureza, a Farmacopeia Brasileira (2010) não estabelece especificação, sendo um teste informativo, observa-se entretanto, que os comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> necessitam de uma força maior para romper comparados aos comprimidos de Diamicron MR<sup>®</sup>.

Para o teste de friabilidade de comprimidos com peso médio inferior a 650 mg, como é o caso dos comprimidos em questão, é descrito na Farmacopeia Brasileira (2010) que o teste seja feito com 20 unidades. Nenhum comprimido deve apresentar-se lascado, quebrado ou com fissura após o ensaio e a perda de massa deve ser de, no máximo, 1,5%. Ambas as amostras estavam em acordo com os limites estabelecidos.

Quanto ao teor, ambas as marcas comerciais de gliclazida apresentaram um teor médio de aproximadamente 97%, correspondendo ao critério de aceitação de 95 a 105% estabelecido na Farmacopeia Britânica (2008). Além disso, quando da comparação de formulação teste com formulação referência, a diferença de teor da substância ativa entre os dois medicamentos não deve ser superior a 5%, segundo a RDC 31 de 2010 (BRASIL, 2010). Desta forma, estas formulações também se encontram dentro do preconizado.

## 3.2 METODOLOGIA DE QUANTIFICAÇÃO DA GLICLAZIDA POR UV/Vis

### 3.2.1 Linearidade, LD e LQ

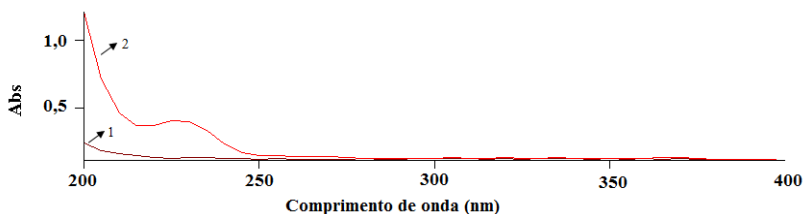
A linearidade foi obtida através da elaboração da curva analítica. Segundo a RE 899/2003, o critério mínimo de aceitação do coeficiente de correlação é de 0,99 (BRASIL, 2003). A curva mostrou que os resultados são diretamente proporcionais à concentração do fármaco na faixa de 5 a 25 µg/mL, com equação da reta  $y=0,034x-0,025$  e coeficiente de correlação linear de 0,999.

A sensibilidade do método foi avaliada através da determinação dos limites de detecção (LD) e limite de quantificação (LQ) apresentando os valores de 0,09 µg/mL e 0,26 µg/mL, respectivamente. Como ambas as concentrações obtidas correspondem a valores menores que o primeiro ponto da curva de calibração, pode-se concluir que o método é sensível para a aplicação proposta.

### 3.2.2 Especificidade

De acordo com os espectros obtidos (Figura 21), pode-se concluir que o método foi específico, não havendo interferências dos excipientes no comprimento de onda selecionado 235 nm.

**Figura 21** - Espectro UV/Vis da gliclazida na presença de diversos excipientes, sendo 1: excipiente e 2: gliclazida



## 3.3 METODOLOGIA DE QUANTIFICAÇÃO DA GLICLAZIDA POR CLAE

### 3.3.1 Linearidade, LD e LQ

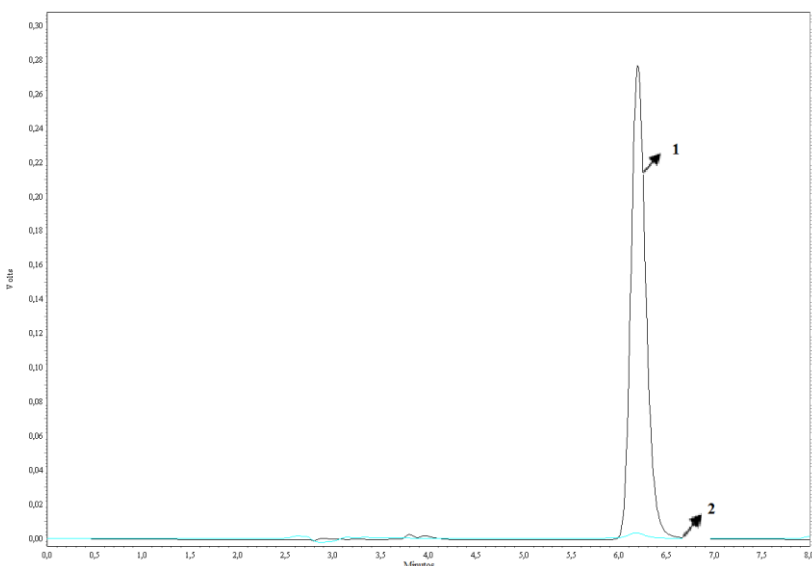
O ensaio apresentou uma correlação linear para concentração de 1 a 150 µg/mL com coeficiente de correlação de 0,99 e equação da reta  $y = 44381x + 13971$ .

O LD foi de 0,21 µg/mL e o LQ de 0,62 µg/mL. Como ambas as concentrações obtidas correspondem a valores menores que o primeiro ponto da curva de calibração, pode-se concluir que o método é sensível para a aplicação proposta.

### 3.3.2 Especificidade

A especificidade do método foi comprovada através da comparação entre o o cromatograma obtido para o meio de dissolução biorrelevante e o fármaco puro, conforme apresentado na Figura 22, mostrando que pelo método por CLAE, o meio não interfere na quantificação do fármaco.

**Figura 22** – Cromatograma da gliclazida em meio biorrelevante obtido por CLAE, sendo 1: gliclazida e 2: meio biorrelevante



Esta técnica foi necessária devido à possível interferência dos componentes do meio biorrelevante na quantificação do fármaco pela técnica UV/vis.

### 3.4 ESTUDOS DE SOLUBILIDADE

A Farmacopeia Americana preconiza que a condição *sink* é o volume de meio no mínimo 3 vezes maior do que aquele necessário para se obter uma solução saturada do fármaco (USP, 2011). Com os resultados dispostos na Tabela 24, pode-se afirmar que a condição *sink* foi mantida apenas nos tampões com valores de pH 6,4; 6,8; 7,0 e meio biorrelevante. Nos demais o volume necessário é superior a 1000 mL.

**Tabela 24** – Solubilidade de equilíbrio da gliclazida em diversos meios de dissolução

Meio de dissolução	Tempo necessário para Atingir o equilíbrio (h)	Solubilidade de equilíbrio ( $\mu\text{g/mL}$ ) $\pm$ DP
Tampão fosfato pH 4,5	48	$33,74 \pm 2,93$
Tampão fosfato pH 5,5	24	$43,34 \pm 2,87$
Tampão fosfato pH 6,0	48	$61,94 \pm 1,50$
Tampão fosfato pH 6,4	24	$113,30 \pm 1,97$
Tampão fosfato pH 6,8	24	$216,46 \pm 3,78$
Tampão fosfato pH 7,0	24	$264,61 \pm 7,80$
Meio biorrelevante pH 6,8	24	$277,40 \pm 2,55$

Observa-se, com os resultados obtidos, que o fármaco possui influência do pH na sua solubilidade, apresentando uma relação diretamente proporcional. Isso é justificado pelo comportamento físico-químico do fármaco. Por ser um ácido fraco com  $\text{pK}_a$  5,8, ele se ioniza em maiores valores de pH e, conseqüentemente, sua solubilidade será maior nestas condições. Esses valores são condizentes com literatura já que mostra a solubilidade do fármaco totalmente dependente de pH (LAKKA; GOSWAMI, 2012; PRIYA; MURTHY, 2012)

Embora a solubilidade no meio biorrelevante pH 6,8 tenha sido um pouco maior do que em tampão fosfato pH 6,8, não houve diferença estatística entre esses valores ( $p > 0,05$ ), através de análise estatística por teste  $t$  de Student com intervalo de confiança de 95%.

Aplicando os dados na Equação 9 proposta por Ottaviani e colaboradores (2015), verifica-se um aumento de solubilidade de 1,28 vezes, indicando que o meio biorrelevante não é capaz de aumentar a solubilidade do fármaco quando comparado ao tampão fosfato para pH 6,8.

Percebe-se pelos resultados que a condição *sink* pode ser mantida apenas com os valores de pH 6,4; 6,8; 7,0 e meio biorrelevante

pH 6,8. Porém, mesmo executando o ensaio fora da condição *sink* para alguns valores de pH, o volume empregado é capaz de solubilizar a totalidade do fármaco, evitando que o mesmo precipite.

Segundo Martin e Gray (2011) a condição *sink* é recomendada nos ensaios de dissolução, porém não é requerida. Ainda ressalta-se que para conseguir perfis de dissolução com maior poder discriminatório, a condição *sink* não é desejada.

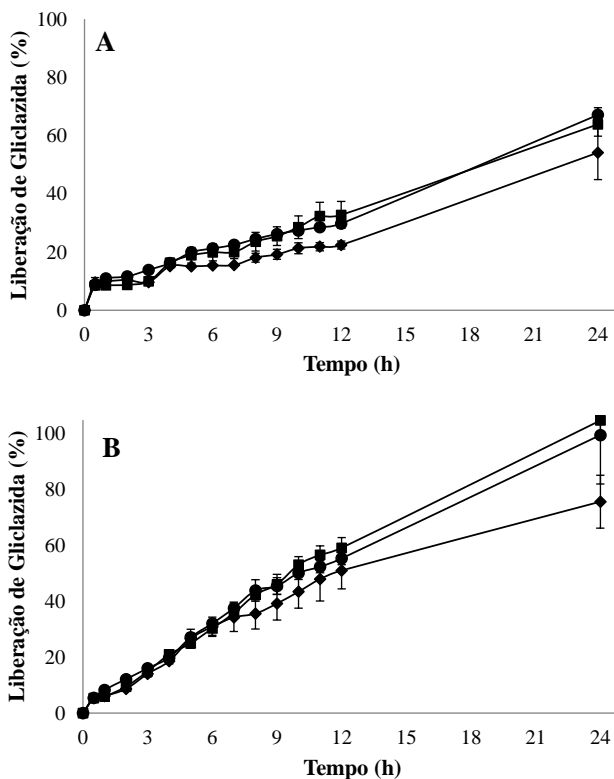
### 3.5 PERFIS DE LIBERAÇÃO DA GLICLAZIDA A PARTIR DE COMPRIMIDOS COMERCIAIS

Os ensaios de dissolução foram realizados em etapas. Inicialmente, a formulação comercial similar Azukon XR<sup>®</sup> foi submetida a diversas condições experimentais, nas quais variou-se o pH do meio de dissolução, o aparato utilizado (aparatos 1, 2 e 3) e a velocidade de agitação (no caso dos aparatos 1 e 2). Ao final dessa bateria de testes, foi possível escolher as condições experimentais que apresentaram os resultados mais apropriados, ou seja, atendendo aos requisitos de um perfil de liberação modificada. Selecionados os parâmetros ideais, o teste de dissolução foi aplicado à formulação comercial de referência Diamicon MR<sup>®</sup>, a fim de verificar o caráter discriminatório deste na comparação com a formulação similar.

#### 3.5.1 Aparato 1 - cesta

A Figura 23 mostra os perfis de dissolução referentes à forma comercial de Azukon XR<sup>®</sup> no aparato 1 (cesta), em diferentes valores de pH. Para avaliar a interferência da agitação, submeteu-se a amostra a duas diferentes condições, 50 rpm (Figura 23 A) e 100 rpm (Figura 23 B).

**Figura 23** - Perfis de dissolução da gliclazida (Azukon XR<sup>®</sup>) em aparato 1, 50 rpm (A) e 100 rpm (B) sob diferentes meios de dissolução, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8



Ambos os perfis correspondem à liberação modificada de gliclazida, devido à liberação gradual do fármaco ao longo do tempo. Os resultados referentes ao percentual de liberação em 24 h e o valor da ED são mostrados na Tabela 25.

**Tabela 25** - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 1 para comprimidos Azukon MR<sup>®</sup> sob duas condições de agitação

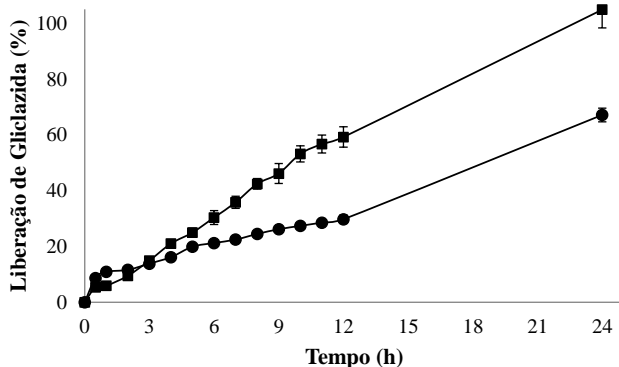
Meio	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
<b>50 rpm</b>		
pH 4,5	54,17 ± 9,28	26,85 ± 2,70
pH 6,4	63,88 ± 4,10	33,76 ± 2,91
pH 6,8	67,13 ± 2,45	34,19 ± 0,97
<b>100 rpm</b>		
pH 4,5	75,74 ± 9,51	45,57 ± 5,55
pH 6,4	104,85 ± 6,52	56,50 ± 3,07
pH 6,8	99,62 ± 17,54	54,33 ± 4,06

No que se refere à comparação dos perfis de dissolução utilizando o fator de semelhança  $f_2$ , não foi possível observar diferenças entre os perfis obtidos em diferentes valores de pH, dentro de uma mesma agitação (Tabela 26). Porém, quando se compara a agitação de 50 rpm com a agitação de 100 rpm, os valores de  $f_2$  mostram que os perfis são distintos e que a agitação é capaz de influenciar na taxa de liberação do fármaco, havendo maior porcentagem de liberação com a agitação de 100 rpm (Figura 24).

**Tabela 26** - Comparação dos perfis de dissolução utilizando o fator de semelhança  $f_2$ , em aparato 1, para comprimidos Azukon MR<sup>®</sup> 30 mg

Comparação	Valores de $f_2$	Diferentes?
pH 4,5 50 rpm x pH 6,4 50 rpm	61,73	Não
pH 4,5 50 rpm x pH 6,8 50 rpm	61,13	Não
pH 6,4 50 rpm x pH 6,8 50 rpm	80,51	Não
pH 4,5 100 rpm x pH 6,4 100 rpm	52,40	Não
pH 4,5 100 rpm x pH 6,8 100 rpm	56,67	Não
pH 6,4 100 rpm x pH 6,8 100 rpm	78,10	Não
pH 4,5 50 rpm x pH 4,5 100 rpm	39,37	Sim
pH 6,4 50 rpm x pH 6,4 100 rpm	37,27	Sim
pH 6,8 50 rpm x pH 6,8 100 rpm	39,32	Sim

**Figura 24** - Perfil de dissolução da gliclazida em Aparato 1, em tampão fosfato pH 6,8 e sob diferentes agitações, sendo (●) 50 rpm e (■) 100 rpm



Desta forma, embora diferentes valores de solubilidade tenham sido observados entre os diferentes pHs, esta tendência não foi observada no ensaio de dissolução, dado esse já discutido por Priya e Murthy (2012) em seu trabalho. É possível que, neste caso a dissolução da gliclazida tenha sido mediada pela formulação e menos influenciada pelas suas propriedades físico-químicas. Estes resultados são confirmados pelos valores de ED aplicando o teste *t de student*.

Isso mostra o quanto a velocidade de agitação interfere na dissolução do fármaco. Para o Azukon XR<sup>®</sup>, o aparato 1 a 100 rpm e com meios de dissolução nos valores de pH 6,4 e 6,8, mostrou-se eficiente e com uma liberação próxima a 100%.

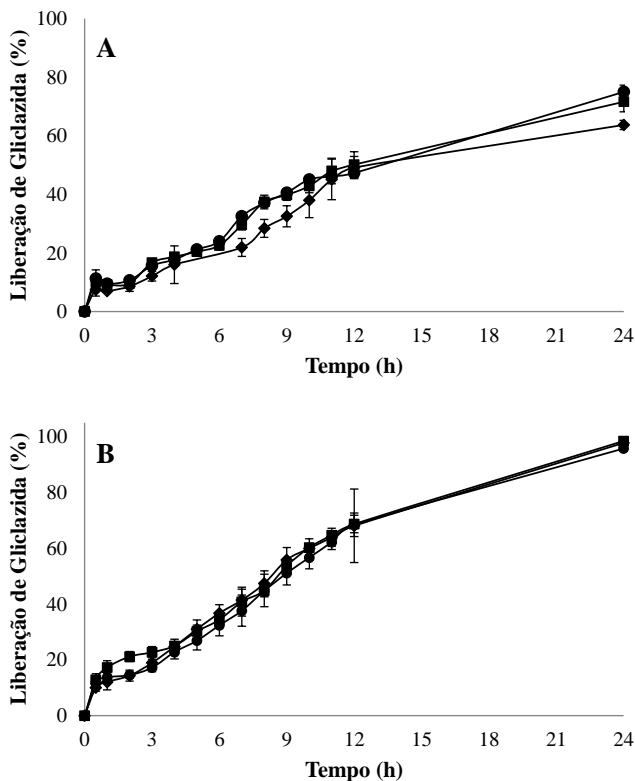
No trabalho proposto por Priya e Murthy (2012) resultados semelhantes puderam ser observados. Os perfis de liberação de gliclazida realizados apenas no aparelho de dissolução cesto e obtidos a partir de distintas marcas comerciais, apresentaram-se dependentes da agitação (50, 75, 100 rpm) e da composição do meio (tampão fosfato, tampão acetato, água destilada, HCl 0,1 N pH 1,2).

### 3.5.2 Aparato 2 - pá

A influencia da agitação também foi avaliada em aparato 2 (pá) para os comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup>. A Figura 25 mostra os perfis de liberação obtidos nas condições de 50 rpm (Figura 25 A) e de 100 rpm (Figura 25 B).



**Figura 25** - Perfis de dissolução da gliclazida em aparato 2, 50 rpm (A) e 100 rpm (B) sob diferentes meios de dissolução, sendo: (♦) tampão fosfato pH 4,5, (■) tampão fosfato pH 6,4 e (●) tampão fosfato pH 6,8



Assim como nos perfis obtidos no Aparato 1, os resultados mostram que se trata de um fármaco com perfil de liberação modificada, liberando gradualmente o fármaco. A Tabela 27 mostra o percentual de liberação em 24 h e as respectivas ED.

**Tabela 27** - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 2 para comprimidos Azukon MR<sup>®</sup> sob duas condições de agitação

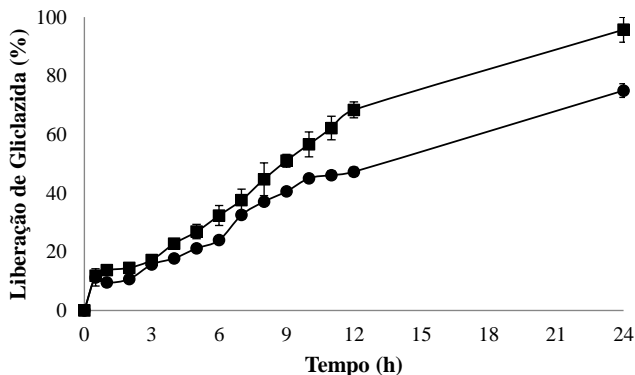
Meio	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
<b>50 rpm</b>		
pH 4,5	63,69 ± 4,89	39,33 ± 2,03
pH 6,4	71,60 ± 3,44	43,88 ± 2,79
pH 6,8	74,97 ± 2,33	44,19 ± 0,44
<b>100 rpm</b>		
pH 4,5	100,62 ± 13,16	61,64 ± 4,01
pH 6,4	101,34 ± 3,12	62,37 ± 0,95
pH 6,8	98,56 ± 4,23	60,12 ± 1,26

Os perfis de dissolução obtidos no Aparato 2 foram semelhantes ao Aparato 1, ou seja, dentro de uma agitação os valores de f2 mostram que não há diferença entre os perfis mesmo quando submetidos a diferentes valores de pH (Tabela 28). Entretanto, quando se compara a influência da agitação, os valores de f2 mostram que os perfis obtidos com a agitação de 50 rpm são diferentes dos perfis obtidos a 100 rpm cuja porcentagem de liberação apresentou-se maior (Figura 26).

**Tabela 28** - Comparação dos perfis de dissolução em aparato 2 por f2 para comprimidos Azukon MR<sup>®</sup> 30 mg

Comparação	Valores de f2	Diferentes?
pH 4,5 50 rpm x pH 6,4 50 rpm	63,8	Não
pH 4,5 50 rpm x pH 6,8 50 rpm	60,0	Não
pH 6,4 50 rpm x pH 6,8 50 rpm	85,0	Não
pH 4,5 100 rpm x pH 6,4 100 rpm	76,0	Não
pH 4,5 100 rpm x pH 6,8 100 rpm	76,3	Não
pH 6,4 100 rpm x pH 6,8 100 rpm	73,4	Não
pH 4,5 50 rpm x pH 4,5 100 rpm	36,4	Sim
pH 6,4 50 rpm x pH 6,4 100 rpm	42,1	Sim
pH 6,8 50 rpm x pH 6,8 100 rpm	46,5	Sim

**Figura 26** - Perfil de dissolução da gliclazida em Aparato 2, em tampão fosfato pH 6,8 e sob diferentes agitações, sendo (●) 50 rpm e (■) 100rpm



Os dados mostrando a semelhança ou não entre os perfis também podem ser comprovados estatisticamente pelos valores de ED ( $p > 0,05$ ).

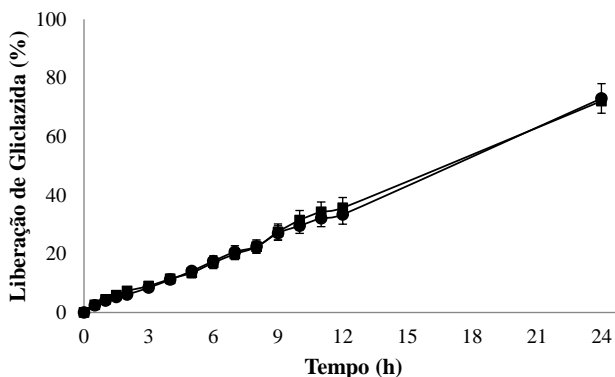
O Aparato 2 por sua vez, mostra mais uma vez que a dissolução da gliclazida é influenciada pelas características da matriz do comprimido e não pelo pH do meio de dissolução e, que a velocidade de agitação interfere na dissolução dos comprimidos de Azukon XR®. Os valores de pH 6,4 e 6,8 do meio de dissolução foram os que apresentaram maior taxa de liberação e maior valores de ED.

### 3.5.3 Aparato 3 - Bio dis

O aparato 3 (Bio-dis) foi planejado com o objetivo de simular, o mais próximo possível, os efeitos do TGI como, por exemplo, as mudanças de pH ocorridas ao longo de todo o trato, principalmente para análise de formulações com liberação modificada (DRESSMAN; KRAMER, 2009). Neste sentido, essas características aliadas fazem com que o equipamento seja promissor para avaliar o comportamento dos comprimidos de Azukon XR®.

A porcentagem de liberação do fármaco em gradiente e pH 6,8 após 24 horas foram similares (Figura 27). O ensaio com gradiente de pH apresentou uma porcentagem de liberação de 73,03% enquanto que no ensaio com pH 6,8 a porcentagem de liberação foi de 72,13% (Tabela 29).

**Figura 27** - Perfis de dissolução da gliclazida em aparato 3, sendo: (●) com gradiente de pH, (■) tampão fosfato pH 6,8



**Tabela 29** - Porcentagem de dissolução em 24 h e ED dos perfis obtidos em aparato 3 para comprimidos Azukon MR®.

Meio	Liberação em 24 h (% ± DP)	ED (% ± DP)
Com gradiente pH 6,8	73,03 ± 5,05	35,35 ± 0,32
	72,13 ± 0,68	35,95 ± 1,81

Assim como nos demais aparatos analisados, o perfil demonstrado trata-se de perfil de liberação modificada, cuja liberação do fármaco ocorre de forma gradual.

Os perfis foram considerados similares pela comparação das ED ( $p > 0,05$ ) e pelo  $f_2$  de 91,49.

Conforme os dados obtidos no ensaio de solubilidade não foi possível manter condição *sink* para os meios com valores de pH mais baixos. Mas o resultado obtido no aparato 3 mostrou que a não condição *sink* para os pHs mais ácidos não interferiu no perfil de dissolução, visto que o perfil em pH 6,8 (dentro da condição *sink*) mostrou-se estatisticamente igual ao perfil com gradiente.

Desta forma, pode-se novamente observar que a dissolução da gliclazida não sofre a influência do pH do meio, dado esse que não justifica o uso do aparato Bio-Dis nos ensaios de comprimidos de Azukon MR® de liberação modificada.

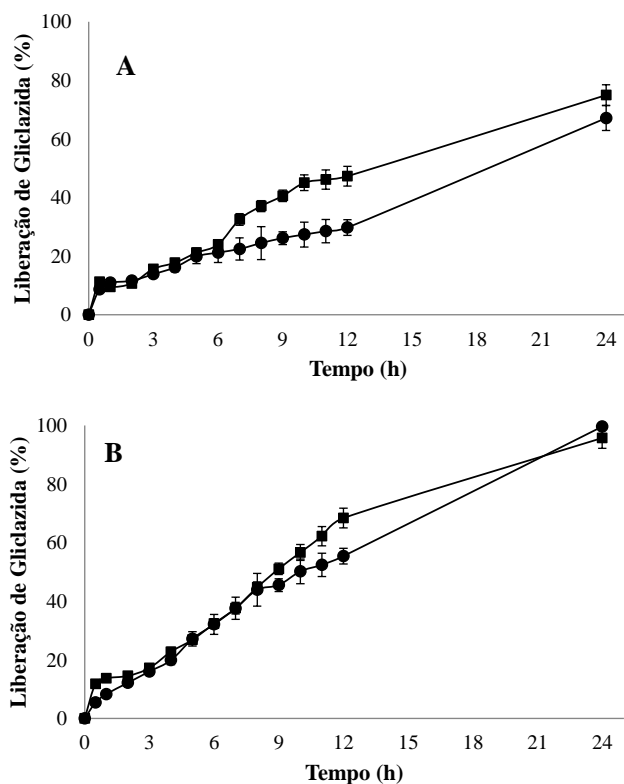
### 3.5.4 Impacto do aparato de dissolução na liberação de gliclazida em comprimidos comerciais de liberação modificada

Uma vez que não foram observadas diferenças de liberação do Azukon MR® em distintos valores de pH, os ensaios realizados em pH 6,8 foram selecionados para avaliação do impacto do aparato de dissolução utilizado.

A condição *sink* não foi mantida para o pH 4,5, mas os resultados mostram que isso não influenciou no processo de dissolução do fármaco, o perfil de dissolução no pH 4,5 é igual ao pH 6,4 e 6,8 que estavam dentro da condição *sink*. A velocidade de agitação impõe uma maior diferença entre os perfis do que a condição *sink* ou valor de pH do meio.

Realizando-se uma comparação entre os aparatos 1 e 2 na velocidade de 50 rpm, observou-se uma liberação um pouco maior da gliclazida no aparato 2 após 24 h ( $75,0 \pm 2,3\%$  versus  $67,1 \pm 2,5\%$ ) (Figura 28 A). Este resultado pode estar associado a uma possível retenção dos componentes do comprimido à malha da cesta, dificultando a liberação do fármaco. De acordo com o f2, estes perfis são considerados semelhantes (valor de f2 igual 50,01). Em comparação semelhante, utilizando os resultados a 100 rpm, observou-se a mesma tendência. A liberação entre os dois aparatos ao final do ensaio foi praticamente a mesma ( $99,6 \pm 5,1\%$  versus  $98,6 \pm 4,2\%$ ) (Figura 28 B) e os perfis foram considerados similares por f2 (valor de f2 igual a 59,9).

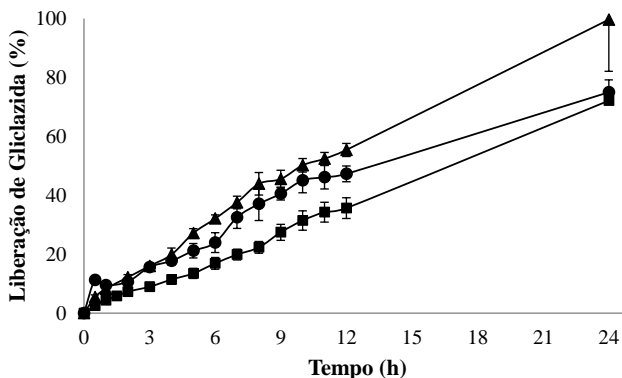
**Figura 28** - Comparação dos perfis de dissolução de Azukon MR® em tampão fosfato pH 6,8 a 50 rpm (A) e 100 rpm (B), sendo (●) Aparato 1 e (■) Aparato 2



De acordo com Kostewicz e colaboradores (2014), a rotação de 50 rpm em pá e de 100 rpm em cesto correspondem a 10 dip/min em aparato Bio-Dis. Desta forma, Os aparatos 1 e 2 a 100 e 50 rpm foram comparados ao aparato 3 (Figura 29). Como pode ser observado, o aparato Bio-Dis apresentou uma menor liberação de gliclazida em comparação aos demais. Os dados estatísticos obtidos com a ED (comparados através de teste *t* de student) e pelo *f*<sub>2</sub>, comprovam que os perfis de dissolução obtidos no aparatos 1 são significativamente diferentes dos aparatos 2 e 3 ( $p < 0,05$ ). Estas diferenças observadas entre os aparatos pá e cesta, e o aparato Bio-Dis, ocorreram devido às

diferenças existentes entre os equipamentos, a destacar a diferença de agitação, as quais impactam nas características hidrodinâmicas do sistema e forças mecânicas potenciais atuantes sobre a estrutura da forma farmacêutica (MISSAGHI; FASSIHI, 2005).

**Figura 29** - Perfil de dissolução da Gliclazida em tampão fosfato pH 6,8, sob diferentes equipamentos sendo (▲) Aparato 1 a 100rpm, (●) Aparato 2 a 50 rpm e (■) Aparato 3 10 dip/min



A partir destas comparações, foi possível verificar que os comprimidos de Azukon XR<sup>®</sup> submetidos ao ensaio em aparato 2, a 100 rpm e com tampão fosfato pH 6,8 como meio de dissolução, apresentaram perfil de dissolução que proporcionou em torno 100% de liberação do fármaco. Além disso, o aparato 2 é um aparato mais simples e comum para ser aplicado a testes de controle de qualidade de comprimidos de liberação modificada de gliclazida em comparação ao Bio-Dis. Neste contexto, este método foi selecionado para avaliar o perfil de dissolução do Azukon XR<sup>®</sup> em meio biorrelevante e do medicamento referência Diamicon MR<sup>®</sup> 30mg.

### 3.5.5 Impacto do meio biorrelevante no perfil de dissolução da gliclazida

O uso do meio biorrelevante tem mostrado, através de estudos, que pode apresentar perfis de liberação mais fidedignos principalmente para fármacos BCS classe II, devido à sua capacidade de formar micelas e aumentar a solubilidade do fármaco (DRESSMAN E REPPAS, 2000; JANTRATID; DRESSMAN, 2009; FRANK, et al.,2012). Entretanto, quando comparado aos tradicionais meios de

dissolução, como os tampões acetato e fosfato, seu custo é muito mais elevado, o que inviabiliza o uso em ensaios de dissolução de rotina.

No estudo de solubilidade em equilíbrio mesmo o meio tampão fosfato pH 6,8 mostrando-se semelhante estatisticamente com o meio biorrelevante pH 6,8, e, mesmo com o valor de aumento de solubilidade (1,28 vezes) proposto por Ottaviani e colaboradores (2015) não se mostrar impactante, um perfil de dissolução em meio biorrelevante foi realizado, a fim de comparar com os dados já obtidos em tampão fosfato pH 6,8 e se ter uma melhor ideia da influencia desse meio sobre uma forma farmacêutica de liberação modificada contendo gliclazida.

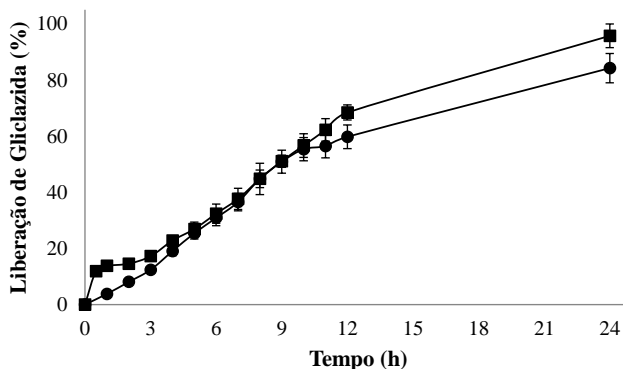
Baseando-se nos resultados obtidos pelo estudo de solubilidade, preparou-se o meio com volume suficiente para manter a condição *sink* (350 mL).

O resultado do ensaio no meio biorrelevante mostrou um perfil similar ao observado em tampão fosfato pH 6,8 (Figura 30) quando foi aplicado f2 (valor de f2 igual a 57,2). Este resultado foi confirmado através da comparação da ED por teste *t* de student ( $p > 0,05$ ). Em 24 horas de ensaio em meio biorrelevante houve 84% de liberação do fármaco e a ED foi de 51,50%. Em tampão fosfato pH 6,8 houve 98,5% de liberação e a ED foi de 60,12%. Com base nestes dados, pode-se concluir, novamente, que para o fármaco gliclazida, o tampão fosfato pH 6,8 é capaz de apresentar uma maior porcentagem de fármaco liberado, sendo selecionado como o método de desenvolvimento, já que apresentou resultado similar a uma solução biorrelevante.

Ainda, ressalta-se que a formulação é o fator responsável em modular a liberação do fármaco a partir dos comprimidos.



**Figura 30** - Perfil de dissolução da gliclazida em aparato 2, 100rpm, pH 6,8 com diferentes composições de meio, sendo: (●) meio FaSSIF pH 6,8 e (■) tampão fosfato pH 6,8



### 3.5.6 Aplicação do ensaio de dissolução desenvolvido no controle de qualidade de comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida: similar *versus* referência

A comparação de perfis de dissolução é útil para selecionar formulações durante o processo de desenvolvimento farmacotécnico, estudos de estabilidade, controle de qualidade e, também, para estudos de equivalência farmacêutica.

De acordo com a RDC 31, de 11 de agosto de 2010, publicada pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária, a qual dispõe sobre a realização dos estudos de equivalência farmacêutica e de perfil de dissolução comparativo (BRASIL, 2010), alguns critérios de aceitação devem ser preenchidos para aplicação em ensaios de comparação de formulações teste e referência. Primeiramente, na ausência de método de dissolução descrito em compêndio oficial, normas ou regulamentos específicos aprovados/referendados pela Anvisa, é de responsabilidade do Patrocinador do Estudo o relatório de desenvolvimento e validação do método de dissolução que deve ser realizado conforme preconizado em guias nacionais e internacionais e conter dados que demonstrem que o método é discriminativo. Para desenvolvimento deste relatório, as seguintes informações devem estar contidas:

- a) Avaliação quantitativa da solubilidade da substância ativa na faixa de pH fisiológico (1,2 a 6,8), considerando a temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- b) Demonstração de que o meio de dissolução é o mais adequado à substância ativa na forma farmacêutica em estudo. A demonstração requer a investigação de curvas de dissolução na faixa de pH fisiológico (1,2 a 6,8), como, por exemplo, em pH 1,2; 4,5 e 6,8, considerando a temperatura de  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ;
- c) Demonstração de que o aparato, a rotação e os filtros utilizados no procedimento de coleta de amostras são os mais adequados à substância ativa e à forma farmacêutica em estudo;
- d) Justificativa da necessidade da utilização de âncoras, quando aplicável;
- e) Comprovação da necessidade de uso de tensoativos, bem como da quantidade empregada, quando aplicável;
- f) Demonstração e justificativa da escolha do valor de Q (quantidade de substância ativa dissolvida expressa como porcentagem do valor rotulado da dose unitária);
- g) Justificativa da necessidade da aplicação de método de desaeração, quando aplicável (BRASIL, 2015 b).

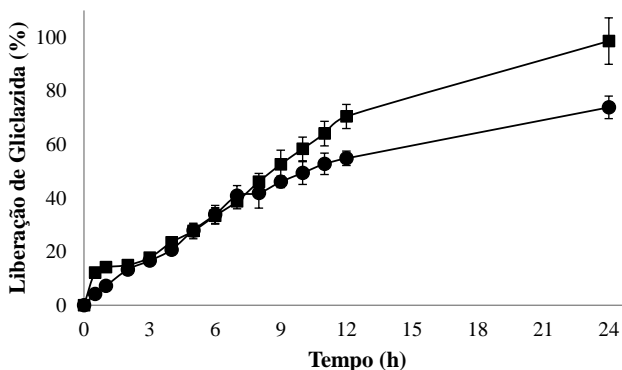
Para aplicação destes testes para formas farmacêuticas de liberação prolongada, a coleta de amostra deve ser representativa do processo de dissolução em, por exemplo, 1, 2 e 4 horas e depois a pelo menos a cada duas horas até que ambos os medicamentos apresentem dissolução de 80% da substância ativa ou o platô seja alcançado (BRASIL, 2015 b).

Desta forma, a partir dos resultados prévios obtidos, foi possível selecionar o método mais adequado, seguindo o preconizado na RDC 31 de 2010 (BRASIL, 2015 b). Para tanto, utilizou-se o ensaio de dissolução com aparato 2, pH 6,8, 100 rpm como método para aplicação no controle de qualidade do medicamento de referência Diamicon MR<sup>®</sup> (laboratório Servier do Brasil Ltda). Este ensaio teve como finalidade promover a comparação entre os perfis de dissolução da formulação similar e genérica (Figura 26).

O Diamicon MR<sup>®</sup>, após 24 horas de ensaio, liberou  $73,8 \pm 8,68\%$  e apresentou uma ED de  $47,9 \pm 0,21\%$ . Para o Azukon MR<sup>®</sup> obteve-se uma liberação de  $98,6 \pm 4,23\%$  e uma ED de  $60,1 \pm 1,3\%$  (Figura 31). Esses perfis foram considerados semelhantes quando

avaliados pelo  $f_2$  (valor de  $f_2$  igual a 57,2), embora o medicamento referência ter apresentado uma liberação menor do que o similar, a avaliação estatística por ED indica que os valores obtidos tratam-se de perfis distintos.

**Figura 31** - Perfil de dissolução do Azukon MR® (■) e Diamicron MR® (●) em aparato 2, 100rpm e tampão fosfato pH 6,8



Priya e Murthy (2012), ao analisarem os comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida das marcas Azukon MR® 30 mg, Nuzide MR® 30 mg e Diamicron MR® 30 mg, concluíram que os perfis de liberação obtidos em tampão fosfato pH 7,4 são todos diferentes entre si. Para obter esse dado, os autores se basearam numa similaridade dos perfis quando os valores de  $f_2$  apresentassem maior que 50 e os valores de  $f_1$  entre 0-15. No caso, na comparação dos medicamentos Azukon com Diamicron os autores encontraram um  $f_2$  de 50,93 e um  $f_1$  de 17,36 enquadrando-o como não similar. Para a metodologia proposta no presente trabalho, que não se deteve aos valores de  $f_1$ , os medicamentos seriam considerados similares assim como ocorreu com os resultados encontrados.

A semelhança dos perfis de liberação obtidos para o Diamicron MR® e Azukon MR® possivelmente se dá pela composição dos excipientes de ambas formulações. Ambos contem o HPMC como polímero para liberação modificada e apresentam o restante dos excipientes muito parecidos.

Estes dados demonstram o caráter discriminatório deste método de dissolução, podendo ser aplicado em ensaios de controle de qualidade de comprimidos comerciais de liberação modificada de gliclazida.

### 3.5.6.1 Modelos cinéticos de liberação de fármaco em ensaios de dissolução *in vitro*

A aplicação de modelos cinéticos de dissolução permite inferir mais detalhadamente sobre diferenças nos perfis de dissolução de medicamentos. A escolha do modelo cinético mais adequado ocorre através do coeficiente de correlação ( $r$ ) obtido, ou seja, o modelo mais adequado é aquele cujo coeficiente de correlação " $r$ " é mais próximo de 1.

Os dados obtidos a partir da avaliação cinética dos perfis de dissolução de Azukon MR® e Diamicon MR® em aparato 2, pH 6,8, 100 rpm estão sumarizados na Tabela 30.

**Tabela 30** - Modelos cinéticos aplicados ao perfil de liberação de Azukon MR® 30 mg e Diamicon XR® 30 mg

	Aparato II 100 rpm pH 6,8 (Azukon MR® 30 mg)	Aparato II 100 rpm pH 6,8 (Diamicon XR® 30 mg)
	<b>r</b>	<b>r</b>
Ordem Zero	0,9729	0,9437
Primeira ordem	0,9857	0,9964
Higuchi	0,9670	0,9845
Korsmeyer	0,9578	0,9960
Peppas		
Hixson-Crowell	0,9812	0,9847

Os valores apresentados demonstraram que tanto o medicamento similar Azukon MR® quanto o referência Diamicon XR®, apresentaram cinética de liberação de primeira ordem. Neste modelo, a quantidade liberada do fármaco em função do tempo é dependente da quantidade de fármaco remanescente na formulação. Os modelos cinéticos calculados para a liberação de fármacos são avaliados em conjunto com outros dados cinéticos como constante de liberação ( $k$ ), tempo necessário para liberar 50% do fármaco ( $t_{50\%}$ ) e pelo tempo necessário para liberar 90% do fármaco ( $t_{90\%}$ ).

Com base no modelo de primeira ordem, os resultados encontrados para ambos os comprimidos foram muito semelhantes. Com relação à constante de liberação, os comprimidos de Azukon MR® 30 mg apresentaram  $k = 0,064 \text{ h}^{-1}$  enquanto os comprimidos Diamicon XR® 30 mg apresentaram  $k$  de  $0,07 \text{ h}^{-1}$ . Foi necessário um tempo de

10,77 h e 35,78 h para liberar 50% e 90% do fármaco no medicamento similar, respectivamente, comparado às 9,9 ( $t_{50\%}$ ) e 32,9 horas ( $t_{90\%}$ ) necessárias para liberar a gliclazida a partir do medicamento referência.

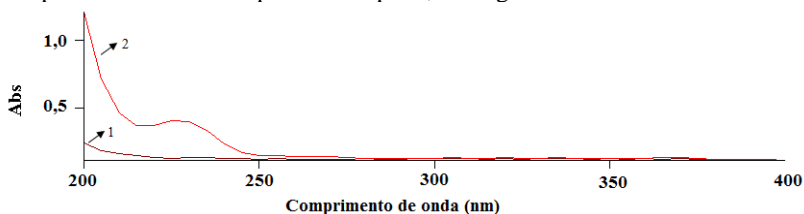
### 3.6 VALIDAÇÃO DO MÉTODO DE DISSOLUÇÃO

O processo de validação é essencial para definir a adequação de um método desenvolvido aos objetivos a que se destina, para que os resultados obtidos sejam confiáveis e satisfatoriamente interpretados. A validação pode ser considerada um dos principais instrumentos de garantia da qualidade, uma vez que possibilita o conhecimento das limitações e da confiabilidade de um método analítico, da instalação de um equipamento ou de um processo produtivo (BRITO, AMARANTE JR, POLESE, 2003)

#### 3.6.1 Especificidade

O espectro de varredura do meio de dissolução é mostrado na Figura 32. Como pode ser observado, não ocorreu nenhuma absorção no comprimento de onda analisado, de modo que o método possa ser considerado específico.

**Figura 32** – Espectro UV/Vis da gliclazida e do tampão fosfato de sódio 50 mM pH 6,8. Sendo 1: tampão fosfato pH 6,8 e 2: gliclazida



#### 3.6.2 Linearidade, LD e LQ

Estes resultados foram apresentados na validação do método de quantificação por espectrofotometria na região UV/vis conforme item 3.2.1.

### 3.6.3 Exatidão e precisão

As recuperações médias de gliclazida para as concentrações de 12, 15 e 18  $\mu\text{g/mL}$  foram de  $98,25 \pm 0,84\%$ ;  $99,13 \pm 1,14\%$  e  $100,77\% \pm 1,23\%$  respectivamente. Os valores próximos a 100% confirmam a exatidão do método.

A precisão intra e inter-dia, avaliada a partir da concentração de 15  $\mu\text{g/mL}$ , ( $99,13 \pm 1,14\%$  para dia 1,  $99,02 \pm 0,85\%$  para dia 2 e  $98,77 \pm 1,13$  para dia 3) demonstram a precisão do método proposto.

### 3.6.4 Estabilidade no meio de dissolução

O fármaco gliclazida mostrou-se estável no meio de dissolução durante as 24 horas avaliadas. A amostra de 15  $\mu\text{g/mL}$  apresentou um teor de  $98,08 \pm 2,21\%$  nas primeiras 12 horas e de  $99,13 \pm 1,14\%$  nas 24 horas de ensaio.

## 4 CONCLUSÃO

Os resultados indicam que apesar da gliclazida apresentar característica físico-química de fármaco dependente de pH para solubilizar-se, a formulação dos comprimidos comerciais desenvolvidos para exercer uma liberação modificada do fármaco (Azukon MR<sup>®</sup> e o Diamicron XR<sup>®</sup>) foi capaz de contornar essa característica e liberá-lo gradualmente, independente do pH do meio.

Tanto o meio biorrelevante quanto o aparato 3 não têm impacto no perfil de dissolução de gliclazida, não justificando seu uso nos ensaios de rotina para esse fármaco.

A velocidade de agitação durante o ensaio tem influência direta na liberação do fármaco, sendo que o aparato 2 sob condições de 100 rpm e em meio de tampão fosfato pH 6,8 apresentou os melhores resultados, sendo estas condições experimentais adequadas para obter perfis de liberação da gliclazida na rotina do controle de qualidade.

O método proposto para realizar os ensaios de dissolução dos comprimidos de liberação modificada de gliclazida foi validado e mostrou-se específico, linear, preciso, exato, sugerindo-o como ideal para realizar os ensaios com comprimidos de gliclazida de liberação modificada.

## **CONCLUSÕES FINAIS E PERSPECTIVAS**

---

O ensaio de dissolução é uma etapa indispensável para identificar possíveis variáveis críticas na produção, formulação e controle de qualidade das FFSO. O ensaio é capaz de prever em determinados casos o comportamento *in vivo* de um dado fármaco o que atribui as FFSO de liberação modificada parâmetros para garantir a segurança e qualidade de uma formulação.

Previamente aos estudos de dissolução foi avaliado a solubilidade dos fármacos nos diferentes meios de dissolução empregados (tampão fosfato 50 mM, pH 4,5; 5,5; 6,0; 6,4; 6,8 e 7,0) e concluiu-se que o cloridrato de metformina é um fármaco não dependente de pH para solubilizar-se, ao contrário do cetoprofeno e da gliclazida. Tais comprovações são embasadas por diversas literaturas científicas discutidas durante o presente trabalho e atribuem o comportamento de solubilidade devido as características físico-químicas e a própria classificação BCS, sendo o cloridrato de metformina classificado como classe III (altamente solúvel) e o cetoprofeno e gliclazida como classe II (baixa solubilidade).

Com intuito de melhorar a solubilidade dos fármacos pouco solúveis, uma estratégia a ser explorada é o uso de meios biorrelevantes que devido a presença de enzimas e emulsificantes em sua composição, é capaz de aumentar a solubilidade de alguns fármacos e simular os fluidos gastrointestinais. No caso, o estudo de solubilidade para cetoprofeno em meio biorrelevante mostrou que o meio não foi capaz de aumentar a solubilidade do fármaco. Já para gliclazida, apesar do resultado do estudo de solubilidade também ser negativo e não apresentar melhora na solubilidade, testes de dissolução em meio biorrelevante foram realizados para avaliar o comportamento.

A avaliação dos perfis de dissolução dos comprimidos de liberação modificada de Glifage XR<sup>®</sup> 500 mg, Profenid Retard<sup>®</sup> 200 mg e Azukon XR<sup>®</sup> 30 mg mostraram comportamentos distintos e particulares quando submetidos a diferentes meios de dissolução e equipamentos de dissolução, aparato 2 e 3.

Com relação aos perfis de dissolução, os comprimidos de Glifage XR<sup>®</sup> contendo o fármaco cloridrato de metformina apresentaram os resultados compatíveis com as especificações impostas na Farmacopeia Americana (USP, 2011) para os comprimidos de liberação modificada. Porém observou-se durante os ensaios, por se tratar de comprimidos matriciais com polímeros que intumescem em presença de água, os mesmos aderiram ao fundo das cubas. No entanto, essa interferência não foi observada nos ensaios realizados em aparato



3. Assim, no caso de formulações matriciais o aparato 3 seria mais recomendado .

Os perfis de liberação obtidos com os comprimidos de Profenid Retard<sup>®</sup> mostrou que a liberação do fármaco é dependente de pH apresentando melhores resultados com o meio de dissolução tampão fosfato 50 mM, pH 6,8. Tanto o aparato 2 como o aparato 3 apresentaram a porcentagem de liberação de cetoprofeno semelhantes (cerca de 60%) após 24 horas de ensaio. No entanto, a velocidade de dissolução foi mais lenta do que os valores preconizados na Farmacopeia Americana (USP, 2011). Dessa forma, sugere-se que futuros ensaios sejam avaliados aumentando a velocidade de agitação do ensaio e alterando o meio de dissolução usado para que assim haja uma concentração maior de fármaco liberada dentro de 24 horas de ensaio e que atenda as especificações farmacopeicas.

Entre os medicamentos analisados o único que não apresentava uma monografia para o ensaio de dissolução dos comprimidos de liberação modificada foi para os comprimidos contendo gliclazida. Nesse âmbito, uma abordagem diferenciada foi empregada, avaliando-se diferentes condições em aparato 1,2 e 3, bem como posteriormente a melhor condição foi validada e aplicada a uma outra formulação (Diamicron XR<sup>®</sup>), disponível no mercado brasileiro.

Os dados obtidos para os comprimidos Azukon XR<sup>®</sup>, demonstraram com os perfis de liberação que apesar do fármaco ser dependente de pH para solubilizar-se, a formulação foi capaz de modular essa característica e os perfis realizados em tampão fosfato 50 mM pH 4,5; 6,4 e 6,8 foram semelhantes quando submetidos as mesmas condições de agitação. Quando comparada a velocidade de agitação de 50 e 100 rpm em aparato 2, foi possível constatar que , a agitação teve uma interferência direta na liberação do fármaco apresentando melhores resultados uma agitação de 100 rpm.

Tanto o aparato 3 como o meio biorrelevante pH 6,8 FaSSIF não tiveram impacto no perfil de liberação e não justificando seu uso para comprimidos de liberação modificada de gliclazida.

Entre as condições testadas a que apresentou uma melhor performance no ensaio de dissolução foi aparato 2, agitação de 100 rpm, meio de dissolução tampão fosfato 50 mM, pH 6,8, sendo esta a condição usada para a validação do método.

A validação analítica do ensaio de dissolução demonstrou que o mesmo é preciso, específico, exato e linear, além de ser uma metodologia simples, com o uso de poucos recursos para a rotina de uma Laboratório de Controle de Qualidade.



## REFERÊNCIAS

ABDELLAH, A.; NOORDIN, M. I.; ISMAIL, W. A. W. Importance and globalization status of good manufacturing practice (GMP) requirements for pharmaceutical excipients. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 23, n. 1, p. 9 - 13, 2015.

ABDOU, H. M. **Dissolution, bioavailability and bioequivalence**. Easton, PA: Marck Publishing Co., 1989.

AGUIAR, G. L.; FARIA, L. G.; FERRAZ, H. G.; SERRA, C. H. R., PORTA, V. Avaliação biofarmacotécnica *in vitro* de formas farmacêuticas sólidas contendo doxiciclina. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 41, n. 4, p. 451 – 458, 2005.

ALVES, M. C.; POLONINI, H. C.; VAZ, U. P.; FERREIRA, A. O.; BRANDÃO, M. A. F. Estudo comparativo de preparações orais sólidas contendo carbamazepina: teste e perfil de dissolução. **Revista Brasileira de Farmácia**, v. 93, n. 4, p. 487 - 492, 2012.

AMIDON, G. L.; LENNERNAS, H.; SHAH, V. P.; CRISON, J. R. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. **Pharmaceutical Research**, v. 12, n. 3, p. 413 - 420, 1995.

ANSEL; POPOVICH; ALLEN JR. In: **Formas Farmacêuticas e Sistemas de Liberação Controlada**. 6.ed. São Paulo: Premier, p. 72-174, 2010.

BAILEY, C. J. Metformin – na update. **General Pharmacology**, v. 24, n. 6, p. 1299 – 1309, 1993.

BASSYOUNI, F.; ELHALWANY, N.; REHIM, M. A.; NEYFEH, M. Advances and new technologies applied in controlled drug delivery system. **Research on Chemical Intermediates**, v. 41, p. 2165 – 2200, 2013.

BIORELEVANT, Biorelevant média. Disponível em: <http://biorelevant.com/biorelevant-media/dissolution-tests/>. Acessado em: 04/10/2015.

Brasil. Agência nacional de Vigilância Sanitária. Bulário eletrônico. Acessado em 12/07/2015. Disponível em: [http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila\\_bula/frmResultado.asp](http://www.anvisa.gov.br/datavisa/fila_bula/frmResultado.asp) (a)

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 310, de 01 de setembro de 2004. Determina a publicação do "Guia para realização do

estudo e elaboração do relatório de equivalência farmacêutica e perfil de dissolução". Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 12/10/2015. (b)

Brasil. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RE nº 899, de 29 de maio de 2003. Determina a publicação do "Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos". Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil. Brasília, DF, Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br>. Acesso em: 27/10/2015. (c)

**BRITISH PHARMACOPOEIA**. London: The Stationery office. vol. III, 2008.

BRITO, N. M.; AMARANTE JUNIOR, O. P.; POLESE, L. et al. Validação de métodos analíticos: estratégia e discussão. Pesticidas: **Revista de Ecotoxicologia e Meio Ambiente**, Curitiba, v. 13, p. 129-146, 2003.

CARUSO, I.; FRIGERIO, E.; FUMAGALLI, M.; LIVERTA, C.; MORO, L.; TAMASSIA, V. Bioavailability study on a new slow release formulation of ketoprofen. **Journal of International Medical Research**, v. 10, p. 229 - 233, 1982.

CHANG, D.; CHANG, R. Review of Current Issues in Pharmaceutical Excipients. **Pharmaceutical Technology**, v. 31, n. 5, p. 56-64, 2007.

COMOGLU, T.; SAVASER, A.; OZKAN, Y.; GONUL, N.; BAYKARA, T. Enhancement of ketoprofen bioavailability by formation of microsp sponge tablets. **Pharmazie**, v. 62, n. 1, p. 51 - 54, 2007.

CORRIGAN, O. I.; DEVLIN, Y.; BUTLER, J. Influence of dissolution medium buffer composition on ketoprofen release from ER products and in vitro-in vivo correlation. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 254, p. 147 - 154, 2003.

COSTA, P.; LOBO, J. M. S. Modeling and comparison of dissolution profiles. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v.13, p. 123-133, 2001.

DESAI, D.; WONG, B.; HUANG, Y.; YE, Q.; TANG, D.; GUO, H.; HUANG, M.; TIMMINS, P. Surfactant-mediated dissolution of metformin hydrochloride tablets: wetting effects versus ion pairs diffusivity. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 103, n. 3, p. 920 - 926, 2014.

DRESSMAN, J.; KRAMER, J. **Pharmaceutical Dissolution Testing**. New York: Inform Healthcare, 2009

DRESSMAN, J.B., REPPAS, C. *In vitro*–*in vivo* correlations for lipophilic, poorly water-soluble drugs. Eur. J. **Pharmaceutical Sciences**, v. 11, p. 73–80, 2000.

ERWEKA. Disponível em: <http://www.erweka.com/>. Acessado em: 23/09/2015

**FARMACOPEIA BRASILEIRA**, 5. ed. Brasília: Fiocruz, 2010.

FDA, *Guidance* for Industry Dissolution Testing of Immediate Release Solid Oral Dosage Forms, FDA, CDER, August, 1997.

FRANK, K. J.; WESTEDT, U.; ROSENBLATT, K. M.; HOLIG, P.; ROSENBERG, J.; MAGERLEIN, M.; BRANDL, M.; FRICKER, G. Impact of FaSSiF on the solubility and dissolution-/permeation rate of a poorly water-soluble compound. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, p. 16 - 20, 2012.

GALIA, E., NICOLAIDES, E., HORTER, D., LOBENBERG, R., REPPAS, C., DRESSMAN, J.B. Evaluation of various dissolution media for predicting *in vivo* performance of class I and II drugs. **Pharmaceutical Research**, v. 15, p. 698–705, 1998.

GONJARI, I. D.; KARMAKAR, A. B.; HOSMANI, A. H. Evaluation of *in vitro* dissolution profile comparison methods of sustained release tramadol hydrochloride liquisolid compact formulations with marketed sustained release tablets. **Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures**, v. 4, n. 4, p. 651-661, 2009.

GOODARZI, M. O.; BRYER-ASH, M. Metformin revisited: re-evaluation of its properties and role in the pharmacopoeia of modern antidiabetic agents. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 7, p. 654 – 665, 2005.

GRAHAM, G. G.; PUNT, J.; ARORA, M. DAY, R. O.; DOOGUE, M. P. DUONG, J. K.; FURLONG, T. J.; GREENFIELD, J. R.; GREENUP, L. C.; KIRKPATRICK, C. M.; RAY, J. E.; TIMMINS, P.; WILLIAMS, K. M. Clinical Pharmacokinetics of metformin. **Clinical pharmacokinetics**, v. 50, n. 2, p. 81 – 98, 2011.

HANNA, T. B. **Avaliação do perfil *in vitro* de dissolução de comprimidos de mesilato de imatinibe empregando a cromatografia líquida de alta eficiência**. São Paulo, 2010, 73p. Dissertação de mestrado - Faculdade de ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

HANSON, R.; GRAY, V. **Handbook of dissolution testing**. 3. ed., Delaware: Dissolution Technologies, p.199., 2004.

HASSAN, E. E.; ESHRA, A. G.; NADA, A. H. Formulation of prolonged release lipid micropellets by emulsion congealing: Optimization of ketoprofen entrapment and release. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 121, p. 149 - 155, 1995.

HIXSON, A. W.; CROWELL, J. H. Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 23, n. 8, p. 923 - 931, 1937.

HOICH RI, NG FM: Insulin-potentiating action of gliclazide (Diamicon) **Pharmacology Research Communications**, v. 18, n. 5, p. 419-430, 1986.

HUNDAL, R. S.; INZUCCHI, S. E. Metformin: new understandings, new uses. **Drugs**, v. 63, n. 18, p. 1879 – 1894, 2003.

ICH. INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION. **Validation of analytical procedures: text and methodology (Q2R1)**, Geneva, 2005.

ISBEC. Produtos para dissolutores. Disponível em: <http://www.isbec.com.br/produtos.php>. Acessado em: 10/10/15

JAMBHEKAR, S. S.; BREEN, P. J. Drug dissolution: significance of physicochemical properties and physiological conditions. **Drug Discovery Today**, v. 18, n. 23/34, p. 1173 - 1184, 2013.

JANTRATID, E.; MAIO, V.; RONDA, E.; MATTAVELLI, V.; VERTZONI, M.; DRESSMAN, J. B. Application of biorelevant dissolution test to the prediction of in vivo performance of diclofenac sodium from an oral modified-release pellet dosage form. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 37, p. 434 - 441, 2009.

JANTRATID, E.; DRESSMAN, J. Biorelevant dissolution media simulating the proximal human gastrointestinal tract: an update. **Dissolution Technologies**, p. 21 - 25, 2009.

JONDHALE, S.; BRISE, S.; PORE, Y. Physicochemical investigations and stability studies of amorphous gliclazide. **AAPS PharmSciTech**, v. 13, No. 2, P. 448 – 459, 2012.

KHAN, K. A; RHODES, C. T. The concept of dissolution efficiency. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**., London, v.27, p. 48-49, 1975.

KLEIN, S.; RUDOLPH, M. W. SKALSKY, B.; PETEREIT, H. U.; DRESSMAN, J. B. Use of the BioDIs to generate a physiologically relevant IVIVC. **Journal of Controlled Release**, v. 130, p. 216 - 219, 2008.

KOSTEWICZ, E. S; ABRAHAMSSON B.; BREWSTER, M.; BROUWERS, J.; BUTLER, J.; CARLERT, S.; DICKINSON, P. A.; DRESSMAN, J.; HOLM, R.; KLEIN, S.; MANN, J.; MCALLISTER, M.; MINEKUS, M.; MUENSTER, U.; MULLERTZM, A.; VERWEI, M. VERTZONI, M.; WEITSCHIES, W.; AUGUSTIJNS, P. In vitro models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 57, p. 342–366, 2014.

KUBBINGAA, M.; MOGHANI, L.; LANGGUTH, P. Novel insights into excipient effects on the biopharmaceutics of APIs from different BCS classes: Lactose in solid oral dosage forms. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, Bilthoven, v. 61, p. 27-31, 2014.

LAKKA, N. S.; GOSWAMI, N. Solubility and dissolution profiles studies of gliclazide in pharmaceutical formulations by RP-HPLC. **International Research Journal of Pharmacy**, v. 3, n. 6, p. 126 - 129, 2012.

LENNERNAS, H.; ABRAHAMSSON, P. The use of biopharmaceutic classification of drugs indrug discovery and development: current status and future extensions. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.57, p.273–285, 2005.

MACHERAS, P.; KARALIS, V.; VALSAMI, G. Keeping a critical eyw on the science and regulation of oral drug absorption: a review. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 102, n. 9, p. 3018 - 3036, 2013.

MADERUELO, C.; ZARZUELO, A.; LANA O, J. M. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. **Journal Controlled Release**., v. 154, p. 2–19, 2011.

MARCOLONGO, R. **Dissolução de medicamentos: fundamentos, aplicações, aspectos regulatórios e perspectivas na área farmacêutica**. São Paulo, 2003. 127p. Dissertação de mestrado - Faculdade de ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo.

MARQUES, M. R. C.; BROWN, W. Desenvolvimento e validação de métodos de dissolução para formas farmacêuticas sólidas orais. **Revista Analytica**, São Paulo, n.1, p.48-51, 2002

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. **Dissolution Technologies**, p. 15-28, august, 2011.

MARTIN, G. P.; GRAY, V. A. Selection of dissolution medium for QC testing of drug products. **Journal of Validation Technology**, p. 7 - 11, 2011.

MISSAGHI, S.; FASSIHI, R. Release characterization of dimenhydrinate from an eroding and swelling matrix: selection of appropriate dissolution apparatus. **International Journal of Pharmaceutics**, v.293. n.1-2, p.35-42, 2005.

MOORE, J. W.; FLANNER, H. H. Mathematical comparison of curves with an emphasis on dissolution profiles. **Pharmaceutical Technology**, v. 20, p. 64-74, 1996.

NAINAR, S.; RAJIAH, K.; ANGAMUTHU, S.; PRABAKARAN, D.; KASIBHATTA, R. Biopharmaceutical classification system in in-vitro/in-vivo correlation: concept and development strategies in drug delivery. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v. 11, n. 2, p. 319-329, 2012.

NOYES, A. A.; WHITNEY, W. R. The rate of solution of solid substances in their own solution. **Journal of the American Chemical Society**, v. 19, p. 930 - 934, 1897.

O'HARA, T.; DUNNE, A; BUTLER, J.; DENAVE, J. A review of methods used to compare dissolution profile data. **Pharmaceutical Science & Technology Today**, Cambridge, v.1, n. 5, 214-223, 1998.

OFOEFULE, S.I.; UDEOGARANYA, P.O; OKONTA, J.M. Prediction of in vivo bioavailability of six brands of ciprofloxacin film coated tablets using the concept dissolution efficiency (DE). **Bollettino Chimico Farmaceutico**, Milano, v. 140, n.3, p. 187-191, 2001.

OLIVEIRA, R. B.; NASCIMENTO, T. L.; LIMA, E. M. Design and characterization of sustained release ketoprofen entrapped carnauba wax microparticles. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, p. 1 -11, 2011.

ONG, A. L.; KAMARUDDIN, A. H.; BHATIA, S. Current technologies for the production of (S)-ketoprofen: process perspective. **Process Biochemistry**, v. 40, n. 11, p. 3526- 3535, 2005.

OTTAVIANI, G.; WENDELSPIESS, S.; SANCHEZ, R. A. Importance of critical micellar concentration for the prediction of solubility enhancement in biorelevant media. **Molecular Pharmaceutics**, v. 12, p. 1171 - 1179, 2015.



PEZZINI, B. R.; FERRAZ, H. G. Bio-Dis and the Paddle Dissolution Apparatuses Applied to the Release Characterization of Ketoprofen from Hypromellose Matrices. **AAPS PharmSciTech**, v. 10, n. 3, p. 763 - 771, 2009.

PEZZINI, B. R.; ISSA, M. G.; DUQUE, M. D.; FERRAZ, H. G. Applications of USP apparatus 3 in assessing the in vitro release of solid oral dosage forms. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 2, 2015.

PEZZINI, B. R.; SILVA, M. A. S.; FERRAZ, H. G. Formas farmacêuticas sólidas orais de liberação prolongada: sistemas monolíticos e multiparticulados. **Revista Ciências Farmacêuticas**, vol. 43, n. 4, 2007.

POLLI, J.E.; REKHI, G.S.; SHAH, V.P. Methods to compare dissolution profiles. **Drug Information Journal**, v.30, p. 1113-1120, 1996.

PRASAD, K., SHAH, V.P., KNIGHT, P., MALINOWSKI, H., CABANA, B.E., MEYER, M.C. Importance of media selection in establishment of in vitro-in vivo relationships for quinidine gluconate. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 13, p. 1-8, 1983.

PRIYA, M. B. V.; MURTHY, T. E. G. K. Development of discriminative dissolution media for marketed glimepiride modified-release tablets. **Dissolution Technologies**, v. 17, p. 38 - 42, 2012.

RADOS DV, PINTO LC, REMONTI LR. Sulfonylureas are not associated with increased mortality: Meta-analysis and trial sequential analysis of randomized clinical trials. American Diabetes Association 2015 Scientific Sessions; June 6, 2015; Boston, MA. Abstract 16-OR.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J. QUINN, M. E. **Handbook of pharmaceutical excipients**. 6 ed. London: Pharmaceutical Press, 2009.

SAMAH, D.; SHEHAYEB, R.; KYRIACOS, S. Modeling and comparison of dissolution profiles of diltiazem modified-release formulations. **Dissolution Technologies**, p. 41 - 46, 2009.

SERRA, C. H. R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 43, n. 1, 2007.

SARKAR, A.; TIWARI, A.; BHASIN, P. S.; MITRA, M. Safety and Efficacy of Glimepiride as Treatment for Type 2 Diabetes: A Systematic Review and

Meta-Analysis of Randomized Trials. **Journal of Applied Pharmaceutical Science**, vol. 01, n.9, p. 11-19, 2011.

SHENG, J. J.; McNAMARA, D. P.; AMIDON, G. L. Toward an *in vivo* dissolution methodology: a comparison of phosphate and bicarbonate buffers. **Molecular Pharmaceutics**, v. 6, n. 1, p. 29 - 39, 2009.

SHOHIN, I. E.; KULINICH, J. I.; RAMENSKAYA, G. V.; ABRAHAMSSON, B.; KOPP, S.; LANGGUTH, P.; POLLI, J. E.; SHAH, V. P.; GROOT, D. W.; BARENDT, D. M.; DRESSMAN, J. B. Biowaiver monographs for immediate-release solid oral dosage forms: ketoprofen. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 101, n. 10, 2012.

SIEPMANN, J.; SIEPMANN, F. Mathematical modeling of drug dissolution. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 453, p. 12-24, 2013.

SIMO, R.; HERNANDEZ, C. Tratamiento de la diabetes mellitus: objetivos generales y manejo en La practica clinica. **Revista Espanola de Cardiologia**, v. 55, n. 8, p. 845 -860, 2002.

SKELLY, J.P., YAU, M.K., ELKINS, J.S., YAMAMOTO, L.A., SHAH, V.P., BARR, W.H..In vitro topographical characterization as a predictor of in vivo controlled release quinidinegluconate bioavailability. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 12, p. 1177–1201, 1986.

STORPIRTIS, S.; OLIVEIRA, P. G.; RODRIGUES, D.; DIMAS, M. Considerações biofarmacotécnicas relevantes na fabricação de medicamentos genéricos: fatores que afetam a dissolução e a absorção de fármacos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 35, n. 1, p. 1-16, 1999.

**THE UNITED STATES PHARMACOPEIA**. 34ed, Rockville: United States Pharmacopeial Convention, 2011.

VADE-MÉCUM de medicamentos 2012, 18ª ed. São Paulo: Soriak, 2012. 1391 p.

VARSHOSAZ, J. ;TAVAKOLI, N.; ENTESHARY, S. Enhancement of anti-diabetic effects of gliclazide using immediate release tablets in streptozotocin-induced diabetic and normal rats. **Farmacia**, v. 61, n. 4, p. 820 - 836, 2013.

WANG, Q.; FOTAKI, N.; MAO. Biorelevant dissolution: methodology and application in drug development. **Dissolution Technologies**, v. 16, n. 3, p. 6 – 12, 2009.

WEN, H.; PARK, K. **Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery**: Theory to Practice. Nova Jersey: Wiley, 2010. 376p

YUKSEL, N.; KANIK, A E.; BAYKARA, T. Comparison of in vitro dissolution profiles by ANOVA based, model dependent and –independent methods. **International Journal of Pharmacy**, v.209, p. 57-67, 2000.